

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

EFEITO DA ADIÇÃO DE COENTRO E URUCUM NA COMPOSIÇÃO DE
ÁCIDOS GRAXOS EM FILÉ DE PESCADA BRANCA (*Cynoscion* spp)

RENATA APARECIDA SORIANO SANCHO

Nutricionista

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Profa. Dra. NEURA BRAGAGNOLO

Orientadora

Campinas 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Sa55e Sancho, Renata Aparecida Soriano
Efeito da adição de coentro e urucum na composição de ácidos
graxos em filé de pescada branca (*Cynoscion spp*) / Renata Aparecida
Soriano Sancho. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Neura Bragagnolo
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Pescada branca (Peixe). 2. Ácidos graxos. 3. Antioxidantes
naturais. 4. Estocagem. 5. Tratamento térmico. I. Bragagnolo,
Neura. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Titulo em inglês: Effect of the addition of coriander and annatto on white hake filets' fatty acid
composition

Palavras-chave em inglês (Keywords): White hake (Fish), Fatty acids, Natural antioxidants,
Storage, Thermal treatment

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Neura Bragagnolo

Luis Antonio Gioielli

Lilian Regina Barros Mariutti

Data de defesa: 26/02/2010

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Neura Bragagnolo
(Orientadora)

Profa Dra. Adriana Zerlotti Mercadante
(FEA - UNICAMP)

Profa Dra. Elizabeth Aparecida. Ferraz da Silva Torres
(FSP - USP)

Dra. Lilian Regina Barros Mariutti
(LANAGRO/MAPA)

Prof. Dr. Luis Antonio Gioielli
(FCF - USP)

Dedico este trabalho:

Aos meus pais Aparecida e Ari,
ao meu marido Eduardo e
à minha filha Isabela,
as pessoas mais importantes de minha vida.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa Dra. Neura Bragagnolo, pela orientação, dedicação e, especialmente, pelo incentivo.

À banca examinadora, pelas contribuições e sugestões apresentadas.

À professora Adriana Zerlotti Mercadante, pelas contribuições práticas e teóricas, essenciais ao presente trabalho.

Às técnicas Rosemar e Karla, pelo agradável convívio e disponibilidade.

À CAPES, pela concessão da bolsa de fomento e à FAPESP pelo apoio financeiro.

À Lilian, por me estimular a pensar e refletir.

À querida Gislaine, pela “iniciação, continuação e terminação” nas práticas laboratoriais.

Aos meus queridos do laboratório, Fabíola, Adélia, Marcela, Viviane, Poliana, Fernanda, Ana Augusta, Mery, Leila, Nathália, Michele, Walkíria, Aline, Naira, Isabela, Bruno, Renan, Eliseu e Gabriel, pela ajuda nas horas de “não sei por onde começar”, pela amizade, carinho e companheirismo tão preciosos em nossas vidas.

Aos meus pais Ari e Aparecida, e minha irmã Daniella, pelo amor, entusiasmo, interesse e apoio.

À minha filha Isabela e ao meu marido Eduardo, pelo amor, carinho, compreensão e ajuda.

LISTA DE ABREVIações

AA - ácido araquidônico
AG - ácido graxo
AGE - ácidos graxos essenciais
AGI - ácidos graxos insaturados
AGMI - ácidos graxos monoinsaturados
AGPI - ácidos graxos poli-insaturados
AGS - ácidos graxos saturados
AL - ácido linoleico
ALA - ácido α -linolênico
BHA - butilhidroxianisol
BHT - butilhidroxitolueno
BS - base seca
BU - base úmida
DCV - doenças cardiovasculares
DHA - ácido docosaenoico
EMAG - éster metílico de ácido graxo
EPA - ácido eicosapentaenoico
IDA - ingestão diária aceitável
LC - leucotrienos
MDA - malonaldeído
PEBD - polietileno de baixa densidade
PG - propilgalato
PG - prostaglandinas
TBA - ácido tiobarbitúrico
TBARS - substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico
TBHQ - terc-butil hidroquinona
TX - tromboxanas

RESUMO

Uma das principais características dos lipídios de peixes é o seu alto teor de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa. Estes ácidos graxos são conhecidos por seus efeitos benéficos à saúde humana, entretanto também são altamente susceptíveis à oxidação lipídica. O urucum e o coentro, condimentos amplamente utilizados na culinária brasileira, têm sido alvo de estudos por conterem compostos aos quais são atribuídas atividades antioxidantes. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da adição de urucum e coentro em carne de pescada branca submetida à estocagem por congelamento a -18°C por 120 dias e cozimento em água fervente a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos, no perfil de ácidos graxos. As amostras foram divididas em quatro grupos, sendo que cada grupo recebeu um tratamento diferente: amostras sem adição de antioxidantes, adicionadas de 0,5% de coentro, adicionadas de 0,1% de urucum e adicionadas de 0,1% de urucum mais 0,5% de coentro. Após a adição dos condimentos foram feitas almôndegas, tendo sido uma parte cozida em água a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos e a outra congelada. As amostras cruas e cozidas foram analisadas no dia 0. Nos dias 30, 60, 90 e 120 as amostras foram analisadas após descongelamento e cozimento. Os ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa após esterificação. Além dos ácidos graxos também foram analisados os lipídios totais e a umidade. A formação de compostos secundários da oxidação lipídica durante a estocagem foi verificada nos tempos 0, 60 e 120 através da determinação de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico. O urucum e o coentro mostraram-se eficazes no controle da oxidação lipídica durante o armazenamento a -18°C . Quando adicionados de maneira isolada, o urucum apresentou maior ação antioxidante que o coentro. Entretanto a combinação de urucum e coentro foi mais eficaz no combate à oxidação lipídica do que quando adicionados separadamente. Por outro lado, estes antioxidantes não se mostraram eficientes no controle da oxidação lipídica quando as amostras foram submetidas ao tratamento térmico a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos.

SUMMARY

One of the main characteristics of fish lipids is its high content of long chain polyunsaturated fatty acids. These fatty acids are well known to exert beneficial effects on human health; however, they are highly prone to oxidation. Annatto and coriander are two spices widely used in the Brazilian cuisine that have been previously studied for their antioxidant activity. The aim of the present work was to evaluate the effect of the addition of annatto and coriander in white hake meat under frozen storage at -18°C for 120 days and submitted to thermal treatment on the fatty acids profile. The samples were divided in four groups and each group received a different treatment: samples without any spice addition, added 0.5% of coriander, added 0.1% of annatto, and added 0.1% of annatto and 0.5% coriander. After the condiment addition, meatballs were molded and part of them was readily cooked in water at $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30 min and the other part was stored. The raw and cooked samples were analyzed at day 0 and after thawing and cooking at days 30, 60, 90, and 120. Fatty acids were analyzed by gas chromatography after esterification. Beyond fatty acids, total lipids and the moisture content had also been analyzed. The formation of secondary compounds from lipid oxidation was verified during storage at days 0, 60, and 120 by thiobarbituric acid reactive substances analysis. Annatto and coriander had revealed good efficiency in controlling lipid oxidation during storage at -18°C . When added alone, annatto presented greater antioxidant action than coriander. However, the combination of annatto and coriander was more efficient against lipid oxidation than when added separately. On the other hand, these natural products did not show significant antioxidant action over lipid oxidation when the samples were submitted to thermal treatment.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Introdução	3
2.2. Ácidos graxos.....	4
2.2.1. Ácidos graxos essenciais.....	5
2.2.2. Ácidos graxos n-3 e n-6 em pescados.....	10
2.3. Oxidação lipídica.....	13
2.4. Efeito do tratamento térmico e da estocagem na oxidação dos ácidos graxos em pescados.....	16
2.4.1. Tratamento térmico.....	16
2.4.2. Estocagem.....	18
2.5. Uso de antioxidantes em alimentos	22
2.5.1. Coentro	24
2.5.2. Urucum	27
3. OBJETIVOS	31
3.1. Objetivo geral.....	31
3.2. Objetivos específicos	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Material	32
4.1.1. Preparo das amostras.....	32
4.1.2. Reagentes	34
4.2. Métodos	34
4.2.1. Caracterização do coentro.....	35
4.2.2. Extração e quantificação da bixina nos filés de pescada branca.....	37
4.2.3. Teor de lipídios totais e umidade.....	38

4.2.4. Determinação de ácidos graxos.....	38
4.2.5. Análise das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)	40
4.3. Análise estatística dos dados.....	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1. Características do coentro	41
5.2. Teores de bixina nos filés de pescada branca	43
5.3. Teores de umidade e de lipídios totais.....	44
5.4. Composição dos ácidos graxos	47
5.4.1. Efeito do tratamento térmico.....	49
5.4.2. Efeito da estocagem	56
5.4.2. Substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	70
6. CONCLUSÃO.....	73
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1. INTRODUÇÃO

O peixe é um alimento consumido pelo homem desde os tempos mais remotos, devido à relativa facilidade na sua obtenção. Trata-se de um alimento de excelente valor nutricional, devido ao alto valor biológico de suas proteínas e à qualidade de seus lipídios.

Há 30 anos atrás, fez-se a constatação, baseada em estudos epidemiológicos, que os esquimós possuíam baixo risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A hipótese para a redução do baixo nível de risco foi atribuída ao alto consumo de ácidos graxos n-3 provenientes de uma dieta rica em peixes. A partir de então, um grande número de pesquisas vem sendo realizado em diversas áreas da medicina e nos dias atuais atribui-se a esses ácidos graxos a prevenção de doenças como dislipidemias, hipertensão arterial, degeneração macular relacionada com a idade, além da diminuição do risco de acidente vascular cerebral isquêmico (CHAN; CHO, 2009; SIMOPOULOS, 2008).

O estudo da composição dos lipídios de peixe tem recebido destaque pela comunidade científica por se tratar da fonte mais importante de ácidos graxos n-3 de cadeia longa e altamente insaturados, dentre os quais se destacam os ácidos eicosapentaenoico e docosaexaenoico (HE et al., 2004). O conhecimento destes lipídios é da maior importância pois a composição dos ácidos graxos destes animais aquáticos varia em função da espécie, tamanho, estado reprodutivo, habitat, período do ano e alimentação (STEFFENS, 1997).

As condições de captura, transporte, armazenamento e processamento são fatores preponderantes na manutenção da qualidade da carne de peixe. O consumo de alimentos à base de pescados processados e congelados ocupa um espaço cada vez maior na sociedade, devido à facilidade que oferecem no momento do seu preparo. Entretanto, apesar do congelamento ser um excelente método de conservação, ele não inibe completamente a oxidação lipídica, que é a principal causa de deterioração dos ácidos graxos, principalmente os poli-insaturados (FRITSCHÉ; JOHNSTON, 1990). Durante este processo oxidativo são produzidos odores e sabores indesejáveis que

podem diminuir a aceitação do produto, além de ser responsável pela diminuição de seu valor nutricional.

A adição de antioxidantes pode diminuir ou retardar a oxidação lipídica. Nos dias atuais é incessante a busca por produtos naturais que possam ter este efeito. A aplicação de condimentos como antioxidantes tem sido estudada por diversos autores, pois é de interesse geral a utilização de produtos que além de conferir sabor também protejam os alimentos (OZOGUL; OZYURT; BOGA, 2009; MARIUTTI et al., 2008b; BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005, 2007).

O urucum e o coentro são condimentos típicos da culinária brasileira, muitas vezes utilizados conjuntamente na elaboração de pratos típicos, principalmente à base de peixes (MELO et al., 2003; GALINDO-CUSPINERA; LUBRAN; RANKUN, 2002).

Embora muitos estudos tenham sido realizados para verificar a composição e degradação de ácidos graxos em peixes, trabalhos que determinem a ação de antioxidantes naturais em peixes são escassos na literatura.

De acordo com o exposto, os objetivos deste estudo foram: (1) determinar a composição dos ácidos graxos de pescada branca crua e submetida a tratamento térmico; (2) verificar a ocorrência de oxidação lipídica em filé de pescada branca estocado por 120 dias sob congelamento em condições domésticas e subsequente tratamento térmico; (3) avaliar o efeito da adição de urucum e de coentro na oxidação dos ácidos graxos de pescada branca submetida a processamento térmico e congelamento por 120 dias, através de cromatografia gasosa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Introdução

Em 2006, a pesca extrativa marinha no Brasil foi da ordem de 527.871,5 toneladas (IBAMA, 2008). Embora um valor importante, quando consideramos o consumo médio de 6,0 kg/habitante/ano (FAO, 2008), percebe-se que o valor é metade do recomendado pela Organização Mundial da Saúde, que é de 12 kg/habitante/ano (SEBRAE, 2009).

O consumo de pescados tem sido incentivado de maneira significativa, em função tanto do papel importante que seus lipídios desempenham na promoção da saúde humana (SIMOPOULOS, 1999), como pelos efeitos protetores frente às doenças cardiovasculares (DCV) (CONNOR, 2000).

A carne de peixe é rica em ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) de cadeia longa, sobretudo os da família n-3, como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaexaenoico (DHA) (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2008; HE et al., 2004; ANDRADE et al., 1995).

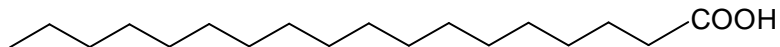
Por se tratar de um alimento altamente perecível, o seu transporte, armazenamento, bem como o processamento, exigem cuidados especiais para evitar a ocorrência de alterações químicas que podem levar à diminuição do seu valor nutricional, a alterações organolépticas indesejáveis e também à formação de produtos prejudiciais à saúde humana (CHAIJAN et al., 2006; ECHARTE; ZULET; ASTIASARAN, 2001; CASTRILLÓN et al., 1996; BELTRÁN, MORAL, 1990). Muitas destas alterações químicas estão relacionadas à oxidação lipídica, que é a principal causa de deterioração desses alimentos. A alta susceptibilidade da carne de peixe à oxidação lipídica (TANAKOL et al., 1999; CANDELA; ASTIASARAN; BELLO 1998) deve-se, justamente, à alta concentração de AGPI nesses alimentos (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2008; GLADYSHEV et al. 2007; CHAIJAN et al., 2006).

2.2. Ácidos graxos

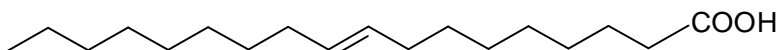
Os ácidos graxos (AG) representam uma fonte importante de energia para a maioria das formas de vida. São ácidos monocarboxílicos alifáticos, classificados em saturados e insaturados.

Os ácidos graxos saturados (AGS) são caracterizados por apresentar apenas ligações simples enquanto que os ácidos graxos insaturados (AGI) podem ser classificados em ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), com uma única ligação dupla em sua cadeia e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) com duas ou mais insaturações igual ou superior a dois (Figura 1).

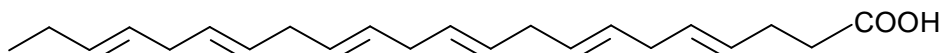
As estruturas dos AG podem ser modificadas através de alongamento e dessaturações, produzindo uma grande variedade de compostos com propriedades físicas e químicas específicas.



AGS: Ácido Esteárico - ác. octadecanoico ou 18:0



AGMI: Ácido Oleico - ác. c-9 octadecanoico ou 18:1n-9c



AGPI: Ácido Docosaexaenoico - ác. c-4,c-7,c-10,c-13,c-16,c-19-docosaexaenoico ou 22:6n-3

Figura 1: Classificação dos ácidos graxos quanto à nomenclatura e número de insaturações.

Para a nomenclatura dos AGI, dois sistemas podem ser utilizados (O'KEEFE, 2008):

- De acordo com a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), que fornece informações sobre o comprimento da cadeia carbônica, o grau e a posição da insaturação, a partir do grupamento carboxílico.
- De acordo com a nomenclatura ômega, que é representada por n ou ω , onde a dessaturação é indicada a partir do carbono metil terminal. Normalmente esta nomenclatura é utilizada quando a discussão sobre AG diz respeito à nutrição.

2.2.1. Ácidos graxos essenciais

Existem duas séries de AG que são consideradas essenciais por não serem sintetizadas pelo organismo humano, devendo ser obtidas exclusivamente através da dieta. Os ácidos graxos essenciais (AGE) afetam a fluidez, flexibilidade e permeabilidade das membranas, são precursores de eicosanoides e estão envolvidos no transporte e metabolismo do colesterol (ETTINGER, 2005; STEFFENS, 1997).

As duas séries de AGE são:

- série n-3: ácido α -linolênico (ALA), eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA);
- série n-6: ácido linoleico (AL) e ácido araquidônico (AA) (Figura 2).

Nas dietas ocidentais o AL é o principal AGE, seguido do ALA. As principais fontes de AG n-6 são castanhas, óleos vegetais como girassol, milho e soja, enquanto que os AG n-3 são encontrados em óleo de semente de linhaça, canola e soja (ALA) como fonte vegetal e principalmente em peixes (EPA e DHA), tais como atum, sardinha e salmão (ETTINGER, 2005; ARTS; ACKMAN; HOLUB, 2001).

O processo evolutivo propiciou aos animais e plantas diferentes habilidades para o metabolismo dos AG. Animais superiores são incapazes de sintetizar todos os AG

necessários para determinadas funções tissulares, sendo, portanto, obrigados a ingerir AG sintetizados pelas plantas (STEFFENS, 1997).

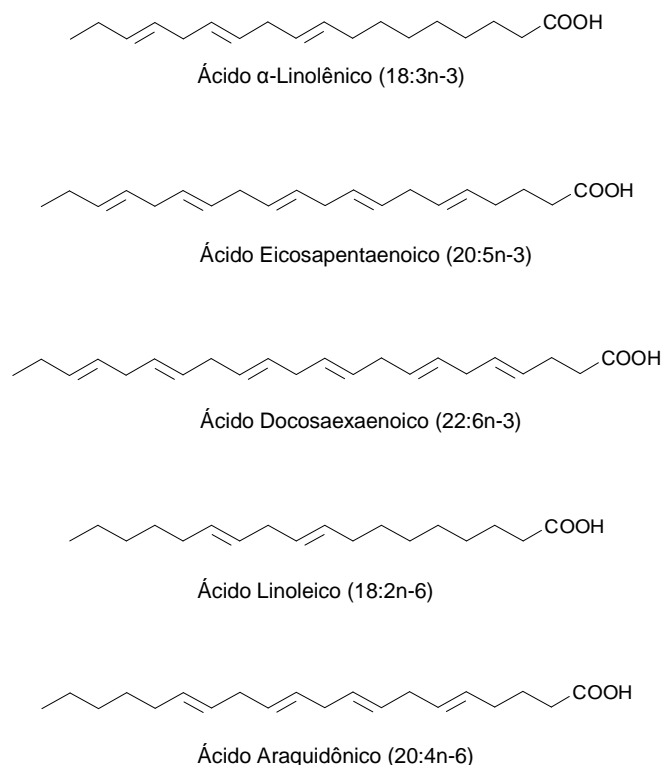


Figura 2: Ácidos graxos de cadeia longa n-3 e n-6.

Nos mamíferos, as células não são capazes de promover a conversão dos AG n-6 em n-3, porque não possuem a enzima de conversão denominada n-3 dessaturase (SIMOPOULOS, 2002). Após o consumo, estes AG são metabolizados através de uma sequência de reações químicas, indicadas na Figura 3:

- O AL é convertido em ácido γ -linolênico (18:3n-6) e dihomolinolênico (20:3n-6) para formar o ácido araquidônico (AA) (20:4n-6), através de reações enzimáticas catalisadas por alongases e dessaturases. O AA poderá posteriormente ser convertido em ácido docosapentaenoico n-6 (22:5n-6) ou eicosanoides;

- O ALA é convertido em ácido estearidônico (18:4n-3) e eicosatetraenoico (20:4n-3) para formar EPA (20:5n-3), utilizando a mesma série de enzimas que foram utilizadas para sintetizar o AA. O EPA é posteriormente convertido em DHA ou ainda em eicosanoides.

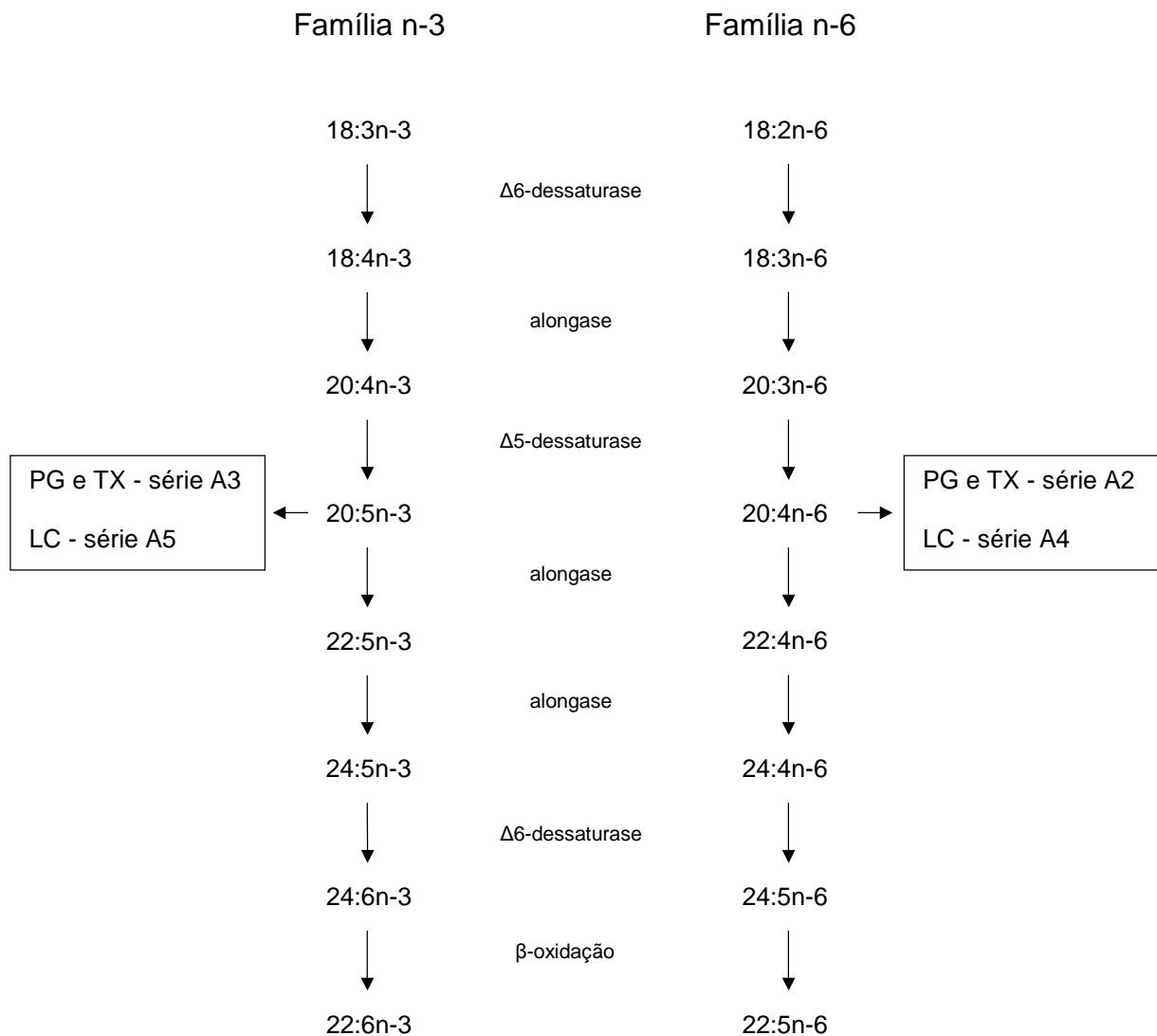


Figura 3: Síntese dos AG de cadeia longa n-3 e n-6 em mamíferos.

PG - prostaglandinas, TX - tromboxanas, LC – leucotrienos.

Como o alongamento e a dessaturação de AL e ALA são realizados pelas mesmas enzimas, pode-se concluir que existe uma competição pelas enzimas e que o excesso de um tipo de AG resulta em diminuição importante da conversão do outro (SCHMITZ; ECKER, 2008; SIMOPOULOS, 1999, 2002).

Embora uma parte do ALA seja convertido em EPA e posteriormente em DHA, a extensão desta conversão é moderada e controversa. Emken, Adlof e Gulley (1994) reportaram taxas de conversão variando entre 11 e 18,5% enquanto que Pawlosky et al. (2001) encontraram 0,2% de conversão. A atividade das enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturase pode ainda ser alterada por fatores como tabagismo, consumo de álcool, stress, ingestão elevada de gorduras *trans* e envelhecimento (MARTIN et al., 2006). Portanto, o consumo de peixes, principais fontes de EPA e DHA, é mais recomendado do que o de alimentos que contenham em ALA.

Os eicosanoides são derivados cíclicos dos AGE e influenciam de maneira significativa as atividades biológicas. Sob a ação de ciclo-oxigenases e lipoxigenases, o AA e o EPA são convertidos em prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas (SIMOPOULOS, 1999, 2008; SCHMITZ; ECKER, 2008).

Os eicosanoides derivados da família n-6 possuem características pró-inflamatórias e pró-agregatórias. Quando produzidos em excesso podem induzir um estado inflamatório que é a base de inúmeras doenças crônicas, tais como: doença cardíaca coronária, diabetes, artrite, câncer, osteoporose, doença mental, xerofthalmia e degeneração macular relacionada com a idade (SIMOPOULOS, 2002, 2008).

Aos eicosanoides derivados da família n-3 são atribuídas propriedades anti-inflamatórias, antitrombóticas e vasodilatadoras que previnem doenças, como dislipidemias, hipertensão arterial, além de reduzir o risco de acidente vascular cerebral isquêmico (SIMOPOULOS, 2008; LOMBARDO; CHICCO, 2006; CALDER, 2004; HE et al., 2004; ARTS; ACKMAN; HOLUB, 2001; CONNOR, 2000).

Visto que a relação dos AG n-6/n-3 afeta fortemente a produção de eicosanoides, o equilíbrio no consumo desses AG é fundamental para a normalidade do metabolismo. (SCHMITZ; ECKER, 2008). Entretanto as dietas ocidentais são caracterizadas pela

ingestão de altos teores de AG da família n-6 e baixos teores da família n-3. Estima-se que atualmente a relação AG n-6/n-3 varie entre 15:1 e 20:1 (SIMOPOULOS, 1999, 2008) quando as recomendações seriam de 5:1 a 10:1 pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (FAO, 1994), de 2:1 a 3:1 pelos EUA (SIMOPOULOS, 2002), de 5:1 pela França, de 6:1 pela Inglaterra e de 5:1 a 6:1 pelo Canadá (ISFAAL, 2008). Portanto, existe uma tendência para que a razão AGPI n-6 /n-3 fique próxima de 5:1.

Quando consideramos apenas os efeitos na prevenção das DCV, as evidências científicas, baseadas em estudos epidemiológicos, são mais favoráveis ao consumo de EPA, DHA e ao consumo moderado de carne de peixe do que ao de ALA (ERKKILÄ et al., 2008).

Os AGPI n-3 também têm sido recomendados nos casos de depressão (FREEMAN et al., 2008), epilepsia (CYSNEIROS et al., 2009) déficit de atenção e hiperatividade (RICHARDSON, 2006) e doenças crônicas e degenerativas relacionadas com a idade (SCHAEFER et al., 2006). No entanto, existem incertezas quanto aos mecanismos de ação de EPA e DHA com relação à saúde mental e se EPA ou DHA são ou não responsáveis por este efeito (KRIS-ETHERTON; HILL, 2008).

Por outro lado, nos casos de desenvolvimento e funcionamento de neurônios e visão, especialmente durante a gravidez, lactação e infância, é comprovada a importância do DHA (BRENNA; DIAU, 2007; SAN GIOVANNI; CHEW, 2005; CRAWFORD, 2000; AUESTAD et al., 1997; INNIS, 1991).

Como apenas algumas espécies de algas são capazes de sintetizar EPA e DHA, os ecossistemas aquáticos são as principais fonte desses dois AG. Portanto, para obtê-los, os seres humanos devem consumir carne de peixes de origem marinha, principalmente de regiões frias (ARTS et al., 2001).

Várias agências reguladoras de saúde têm recomendado o consumo de EPA e DHA, assim como o da carne de peixe devido aos efeitos benéficos à saúde e diminuição do risco de diversas doenças crônicas. Os valores recomendados são de 500 mg de EPA/DHA diários ou ainda duas porções de peixe cozido, preferencialmente com alto teor de gordura, por semana. Essa recomendação é baseada na equivalência

aproximada de 225 g de peixe cozido a 500 mg de EPA e DHA por dia (ISSFAL, 2008; KRIS-ETHERTON; HILL, 2008; KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2002).

2.2.2. Ácidos graxos n-3 e n-6 em pescados

Os teores e a composição dos AG nos peixes não são constantes. Eles podem ser influenciados pelo tamanho, idade, estado reprodutivo, alimentação, localização geográfica, habitat e período do ano (KALYONCU; KISSAL; AKTUMSEK, 2009; HUYNH; KITTS, 2009; ALASAVAR et al., 2002; OSMAN, SURIAH; LAW, 2001; STEFFENS, 1997; ARMSTRONG; LEACH; WYLLIE, 1991). Essa composição varia consideravelmente entre diferentes espécies e também para a mesma espécie, quando analisada em diferentes momentos ou condições. Além da dieta, as mudanças de temperatura, salinidade e profundidade da água podem alterar a composição de AG, através de mecanismos adaptativos (TANAKOL et al., 1999).

De uma maneira geral, a análise dos teores de AGMI bem como os de AGPI, entre os peixes de água salgada e os de água doce, demonstra uma relação inversa (CELIK; DILER; KUCUKGULMEZ, 2005; OSMAN; SURIAH; LAW, 2001; STEFFENS, 1997; SURIAH et al., 1995), melhor evidenciada na Tabela 1.

Tabela 1: Teores (T) de AGMI e AGPI em Peixes de Água Salgada e Doce

Ácido Graxo	Peixes de Água Salgada	Peixes de Água Doce
AGMI	Menor T	Maior T
AGPI	Maior T	Menor T
n-3	Maior T	Menor T
n-6	Menor T	Maior T

Os peixes marinhos são caracterizados por possuírem baixos níveis de AL e ALA e altos níveis de AGPI n-3 de cadeia longa. Já os peixes de água doce possuem altos

níveis de AGPI com 18 carbonos, e teores razoáveis de EPA e DHA. Além disso, eles são caracterizados por possuírem altos níveis de AGPI n-6, principalmente AA e AL (STEFFENS, 1997).

O ponto de fusão dos AGPI n-3 é mais baixo que o dos AGPI n-6 (CELIK; DILER; KUCUKGULMEZ, 2005). Para que ocorra adaptação às baixas temperaturas, os peixes necessitam de AGPI. Uma explicação para a necessidade de maiores quantidades de AGPI n-3 do que de AGPI n-6 em peixes de água fria é que a estrutura dos ácidos graxos da família n-3 permite um maior grau de insaturação, o que confere as maiores flexibilidade e permeabilidade à membrana fosfolipídica necessárias à sobrevivência dos peixes em baixas temperaturas (LOVELL, 1991).

O peixe marinho salmonete (*Mullus barbatus*) do Mar Mediterrâneo apresentou EPA e DHA como principais AGPI n-3. Entretanto os teores de DHA foram mais altos na primavera do que no outono, que corresponde ao período posterior à desova. Este fato poderia ser explicado pela transferência de DHA, dos músculos, para as ovas durante o período reprodutivo, exemplificando a diferença de composição de AG em peixes, em função do período do ano e da sua reprodução (POLAT et al., 2009).

A análise da composição de dezoito espécies selvagens de peixe de água salgada e uma espécie criada de água doce, provenientes da Turquia, demonstrou que a maioria dos peixes marinhos apresentou altos níveis de AGPI n-3, sendo preponderante o DHA. A espécie de água doce possuía menores teores de EPA e DHA, quando comparados aos peixes marinhos (TANAKOL et al., 1999). O mesmo foi observado por Osman, Suriah e Law (2001) para dez espécies de peixes marinhos e de água doce consumidos na Malásia. Ambos os estudos evidenciam as diferenças encontradas na composição dos AG das espécies em função de fatores ambientais como a salinidade e local de captura do peixe.

Ao estudar a composição de lipídios de dez espécies de peixes marinhos de águas profundas, Okland et al. (2004) encontraram altos teores de AGPI n-3, sendo que o DHA foi predominante.

Em estudo da composição de AGPI n-3 de dezessete espécies de peixes de água doce do sul do Brasil (barbado, carpa, cascudo abacaxi, cascudo cachorro, corvina, curimba, dourado, jurupoca, mandi, pacu, piapara, piau, pintado, piranha, tilápia, traíra e truta) foram encontradas grandes variações entre as diferentes espécies. Embora o DHA estivesse presente em dezesseis espécies, o barbado, a corvina e a truta foram considerados as melhores fontes de AGPI n-3 dentre as espécies, por apresentarem melhor relação AGPI n-3/ n-6 (ANDRADE et al., 1995).

Ao avaliar a composição de espécies de pescados da costa sudeste do Brasil com carne escura (Sardinha-da-lage, Sardinha brasileira, Savelha, Cavalinha, Bonito-cachorro, Xixarro, Enchova, Atum), com carne branca (Badejo-mira, Xerelete, Peixe-espada, Serra, Peixe-porco, Tainha, Goete) e duas espécies antártidas (*Icefish* de carne escura e *Rock perch* de carne clara) foi verificado que as espécies brasileiras são mais ricas em AGPI n-3 que as espécies provenientes da Antártida (VISENTAINER et al., 2007). Todavia, esses resultados não se constituem em unanimidade, visto que Wang et al. (1990) encontraram resultados opostos aos anteriormente demonstrados.

A avaliação da composição de peixes do Oceano Pacífico revelou que em todas as espécies analisadas, os teores de AGPI n-3 foram superiores aos teores de AGPI n-6. EPA e DHA foram os AGPI n-3 majoritários (HUYNH et al., 2007).

O estudo realizado com espécimes, selvagens e criadas, de perca (*Dicentrarchus labrax*) demonstrou que este peixe marinho possui altos teores de AGPI n-3, sendo os EPA e DHA os principais AGPI encontrados. Porém, as porcentagens destes AG foram significativamente maiores nas espécies selvagens, levando a uma maior razão AGPI n-3/AGPI n-6 do que nas espécies criadas (ALASAVAR et al., 2002).

Ao realizar a comparação de três diferentes espécies de peixes de água doce: matrinxã (*Brycon cephalus*), piraputanga (*B. microlepis*) e piracanjuba (*B. orbignyanus*), tanto criadas como selvagens, detectou-se teores de AGPI n-6 superiores aos de AGPI n-3 em todas as espécies, sendo que as espécies selvagens apresentaram maior razão AGPI n-3/AGPI n-6 que as criadas (MOREIRA et al., 2001), isto se deve provavelmente ao tipo de alimentação recebido pelas espécies criadas.

Em estudo realizado para determinação da influência da alimentação na composição dos AG da sardinha (*Sardinops melanostictus*), foi verificada uma menor porcentagem de EPA do que de DHA, quando comparada a outras sardinhas da mesma espécie capturadas em áreas diferentes. Assim, considera-se que o plâncton, do qual o peixe se alimenta, exerce uma forte influência na composição dos AG (SHIRAI; TERAYAMA; TAKEDA, 2002).

A adição de óleo de linhaça em substituição ao óleo de girassol na ração de tilápias do Nilo resultou em um aumento significativo das concentrações de ALA, EPA e DHA, comprovando a influência da alimentação na composição dos AG (VISENTAINER et al., 2005).

Portanto, os dados da literatura sugerem que peixes marinhos possuem altos teores de AGPI n-3 e que nos peixes de água fria, as quantidades destes AG são superiores às encontradas nos de águas mais quentes. Entretanto ambos os tipos podem ser considerados boas fontes de EPA e DHA. Peixes de água doce possuem maiores teores de AGPI n-6 do que de n-3, embora algumas espécies possam ser consideradas boas fontes de AG n-3. Vale ainda salientar que os peixes criados apresentam maiores teores de AG n-6 do que os selvagens, devido ao tipo de dieta que é fornecida a esses peixes, derivada principalmente de grãos ricos nesta classe de AG (ALASAVAR et al., 2002; MOREIRA et al., 2001; STEFFENS, 1997).

2.3. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração de alimentos, sendo responsável pela produção de odores e sabores desagradáveis, diminuição da vida de prateleira, perda de valor nutricional devido à degradação de AGE, desnaturação de proteínas com consequente perda de propriedades funcionais, degradação de vitaminas e finalmente formação de compostos nocivos à saúde humana, tais como os óxidos de colesterol (ERICKSON, 2008; ECHART; ZULET; ASTIASARAN, 2001; FRANKEL, 1996; CASTRILLÓN et al., 1996).

Os principais compostos participantes da oxidação lipídica são os AGI e o oxigênio. Embora este processo possa ocorrer pela ação de enzimas ou possa ser induzido pela luz (foto-oxidação), a via mais freqüente de interação entre os AGI e o oxigênio é através de uma sequência de reações em cadeia de radicais livres, denominada autooxidação (Figura 4), que é caracterizada por três etapas: iniciação, propagação e terminação (ERICKSON, 2008).

Na etapa da iniciação ocorre a formação de radicais alquila, pela abstração de um átomo de hidrogênio da molécula de AGI. Luz, calor, metais e espécies reativas de oxigênio podem facilitar a formação dos radicais livres. A formação do radical ocorre no carbono que necessita da menor quantidade de energia para a abstração do átomo de hidrogênio. Enquanto que são necessárias ~100 kcal/mol para a remoção de um átomo de hidrogênio de um carbono saturado, ~75 kcal/mol são suficientes para a abstração quando está adjacente a uma insaturação e apenas ~50 kcal/mol quando entre duas insaturações. Portanto os AGI são mais susceptíveis à oxidação lipídica do que os AGS (KIM; MIN, 2008).

A fase da propagação ocorre quando o oxigênio triplete reage com os radicais alquila, produzindo radicais peroxila, que por sua vez abstraem átomos de hidrogênio de outras moléculas de ácidos graxos, produzindo assim novos radicais alquila e hidroperóxidos. Este mecanismo de reações acelera a oxidação. Os hidroperóxidos são instáveis e se decompõem produzindo radicais alcóxila que, em seguida, formarão compostos de baixo peso molecular, tais como os aldeídos, cetonas, ácidos, alcoóis e hidrocarbonetos de cadeia curta. O ferro heme, ou não, é o composto que mais contribui para a decomposição dos hidroperóxidos em alimentos (KIM; MIN, 2008).

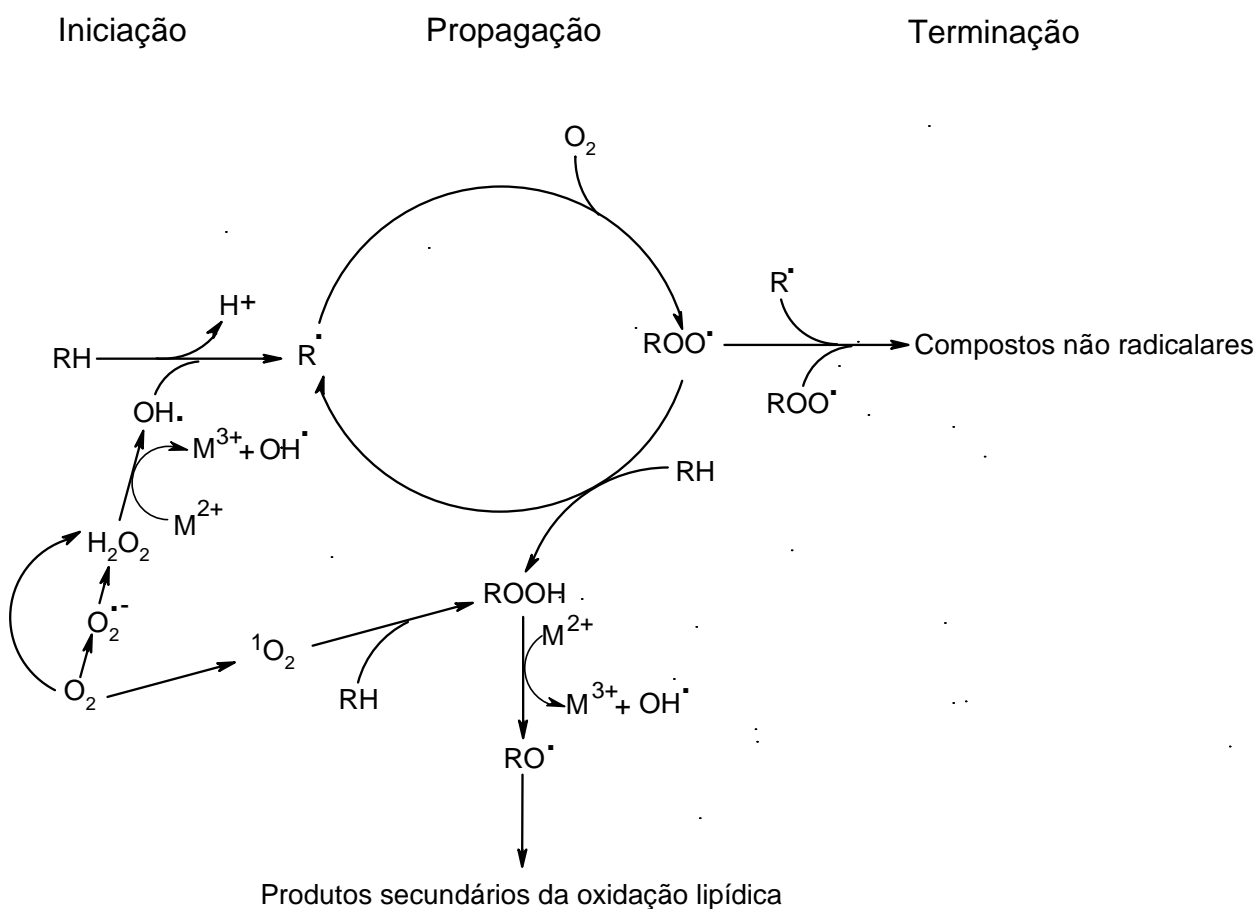


Figura 4: Etapas da oxidação lipídica. Adaptado de Carlsen (2003).

Finalmente, na etapa da terminação, ocorre a decomposição dos hidroperóxidos levando a formação de compostos de baixo peso molecular como hidrocarbonetos, aldeídos, alcoóis e cetonas e a formação de compostos não radicalares com alto peso molecular provenientes da reação entre diferentes radicais formados durante a propagação (KIM; MIN, 2008).

Os compostos de baixo peso molecular são responsáveis pelos odores e sabores de ranço, enquanto que os de maior peso molecular são os responsáveis pelas alterações de viscosidade e cor dos produtos oxidados (Figura 4). A foto-oxidação ocorre quando AGI reagem com oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), gerando imediatamente hidroperóxidos, sem formação intermediária de radicais livres. A introdução do $^1\text{O}_2$ na molécula de AGI acontece em um dos carbonos onde a ligação dupla está presente.

Como a carne de peixe é rica em AGPI, a oxidação lipídica é um dos maiores problemas encontrados em pescados e produtos derivados (YAGIZ et al., 2009; FRITSCHÉ; JOHNSTON, 1990).

2.4. Efeito do tratamento térmico e da estocagem na oxidação dos ácidos graxos em pescados

2.4.1. Tratamento térmico

O tratamento térmico pode inibir o crescimento microbiano e inativar as enzimas lipolíticas. Entretanto, pode ter um efeito pró-oxidante ao romper a integridade celular, inativar enzimas com atividade antioxidante, liberar o ferro presente nas proteínas heme além de decompor peróxidos pré-existentes na carne, diminuir a vida de prateleira e valor nutricional, com perda de vitaminas, alterações no perfil de AG e formação de óxidos de colesterol (YAGIZ et al., 2009; HUR; PARK; JOO, 2007; BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005). Além disso, o aquecimento leva à diminuição da umidade e consequente aumento do teor de gordura total (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008; ECHARTE; ZULET; ASTIASARAN, 2001).

Os AGPI são mais susceptíveis à oxidação lipídica do que seus análogos saturados, porém alguns tipos de AGPI podem permanecer inalterados em algumas espécies de peixes sob determinado tratamento térmico (CANDELA; ASTIASARAN; BELLO, 1998).

A espécie de pescado e as condições do tratamento térmico, tais como tempo e temperatura, são fatores importantes que afetam a composição final do produto (GLADYSHEV et al., 2006; MAI et al., 1978).

Pescados submetidos à fritura absorvem o óleo e tendem a ter uma composição de AG semelhante à do óleo empregado no tratamento. Portanto, este é um tipo de processamento que aumenta os teores de gorduras totais do alimento e altera a relação AGPI n-3/n-6 de maneira desfavorável, limitando os efeitos benéficos dos altos teores

de AGPI n-3 presentes na carne de peixe (BAKAR; RAHIMABADI; CHE-MAN, 2008; WEBER et al., 2006; CANDELA; ASTIASARAN; BELLO, 1997, 1998; MAI et al., 1978).

Em estudo realizado com postas de cavala submetidas a quatro diferentes métodos de cocção (cozimento em forno de micro-ondas - potência alta por 4 a 5 minutos, grelhamento - *grill* elétrico a 120°C por 13 a 15 minutos, cozimento no vapor - por 12 a 14 minutos e fritura em óleo de palma - a 165°C por 6 minutos), os resultados demonstraram que a influência no perfil dos AG dos três primeiros tratamentos foi pequena, sem que houvesse alterações significativas na relação AGPI n-3/n-6. Entretanto, quando as amostras foram fritas em óleo de palma, as mudanças foram mais drásticas, com um aumento significativo de AL, ocasionado pela incorporação do óleo utilizado na fritura e uma diminuição de EPA e DHA, o que levou a uma diminuição importante da relação AGPI n-3/n-6 (BAKAR; RAHIMABADI; CHE-MAN, 2008). Resultados semelhantes foram obtidos no estudo realizado por Weber et al. (2006) em filés de bagre fervidos em água (98°C por 12 minutos), assados em forno convencional (250°C por 20 minutos), assados em forno de micro-ondas (potência alta por 2 minutos) e grelhados em *grill* elétrico (termostato programado para 350°C por 10 minutos).

Castro et al. (2007) verificaram o efeito de diferentes tratamentos térmicos (cozimento no vapor - por 20 minutos e assamento - forno convencional a 180°C por 25 minutos) em ácidos graxos de carpa (*Cyprinus carpio*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e tambacu, híbrido de tambaqui (*Colossoma macroporum*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*), sendo que os diferentes pescados foram cozidos inteiro e com a pele. A variação encontrada nos teores de ácidos graxos foi pequena, demonstrando que ambos os tratamentos térmicos tiveram pouca influência na composição dos AG das espécies analisadas.

Em estudo realizado com sardinhas grelhadas a 175°C por 4 minutos, os AGPI se mostraram termolábeis, com reduções de 32% e 23% de EPA e DHA, respectivamente (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008). Reduções de 20% de EPA e de 17% de DHA, também foram encontradas em filés de pescada grelhados a 165°C por 4 minutos (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2007).

Ao analisar três diferentes espécies de pescado com alto teor de gordura (cavalas, sardinha e salmão), submetidas à fritura em óleo de girassol a 180°C por 5 minutos, verificou-se que as diminuições de EPA e DHA foram significativas para cavala e sardinha. Entretanto, os teores destes AGPI n-3 no salmão sofreram pequenas alterações. A mudança na relação AGPI n-3/n-6 ocorreu nas três amostras, porém o salmão apresentou a melhor relação devido provavelmente à relativa estabilidade do EPA e do DHA durante a fritura (CANDELA; ASTIASARAN; BELO, 1998).

A comparação realizada entre amostras de salmão cozidas em água a temperatura de ebulição (interior das amostras a 72°C) e submetidas à alta pressão (150 e 300 MPa) revelou valores mais baixos de AGPI n-3 e n-6 para as amostras cozidas, perdas estas relacionadas com a oxidação lipídica. Embora seja conhecido o fato de que as altas pressões aumentem o nível de oxidação lipídica, as alterações musculares ocorridas em decorrência do tratamento teriam tornado a astaxantina, carotenoide presente no salmão, mais disponível para proteção dos AG frente à oxidação lipídica (YAGIZ et al., 2009).

Filés de salmão submetidos a quatro diferentes tratamentos térmicos: fervura (85-90°C por 10 a 15 minutos), cozimento com pouca água (85-90°C por 10 a 15 minutos), fritura em óleo de girassol (150- 170°C por 15 a 20 minutos) e assado (250-280°C por 15 a 20 minutos) não apresentaram redução significativa de EPA e DHA exceto nas amostras fritas. Peixes de cor alaranjada, que possuem altos teores de carotenoides, compostos com ação antioxidante, estariam protegidos da oxidação lipídica durante o tratamento térmico (GLADYSHEV et al., 2006).

2.4.2. Estocagem

A carne de peixe, na maioria das vezes, é consumida em locais distantes de sua captura ou produção, necessitando de transporte e conservação criteriosa para evitar a sua deterioração. O congelamento é um método bastante difundido para a conservação de pescados, tanto em ambiente doméstico quanto industrial, pois aumenta a vida de prateleira, inibindo o crescimento microbiano e reduzindo a atividade enzimática

(NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009; CASTRILLÓN et al., 1996; NAMBUDIRI; GOPAKUMAR, 1992).

Entretanto, várias alterações químicas podem ocorrer durante o congelamento, tais como a desnaturação de proteínas musculares (responsável por alterações de suas propriedades funcionais e estruturais) e a oxidação lipídica, que pode alterar de maneira significativa o perfil dos ácidos graxos da amostra (NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009).

O comportamento dos AG em amostras de sardinhas inteiras foi avaliado durante armazenamento a -18°C. O estudo demonstrou uma diminuição progressiva na quantidade de AGPI ao longo do tempo de estocagem. A concentração de AGPI n-3 foi reduzida e diminuições significativas de EPA e DHA foram detectadas após 120 dias de estocagem (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008). Esses resultados estão de acordo com outros estudos realizados com congelamento de filés de sardinha com pele a -20°C por 4 meses (CASTRILLÓN et al., 1996), e filés de peixes (*Scomberomorus commersoni* e *Carcharhinus dussumieri*) a -18°C por 6 meses (NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009). Esses resultados confirmam a relação existente entre o tempo de congelamento e a oxidação lipídica.

Durante estocagem de pescada, inteira e em filés, a -18°C, -24°C e -30°C, detectou-se oxidação lipídica apenas nas amostras conservadas a -18°C. As amostras inteiras foram menos susceptíveis à oxidação do que as amostras em filés, este resultado demonstra o efeito do processamento mecânico frente à oxidação lipídica (PÉREZ-VILLARREAL; HOWGATE, 1991).

Ao comparar dois filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD), um com baixa permeabilidade ao oxigênio (0,1 mm de espessura) e outro permeável ao oxigênio (0,6 µm de espessura), para o acondicionamento de pescada durante o congelamento a -18°C por 120 dias, foram observadas diminuições respectivas de 41 e 50% nos teores de AGPI (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2008). Em condições de estocagem similares a citada anteriormente, foi reportado o decréscimo do teor de AGPI em sardinhas cruas e

grelhadas (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008) e pescadas (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2007).

Refsgaard, Brockhoff e Jensen (1998) verificaram a diminuição de AGPI em amostras de salmão estocadas a -10°C e -20°C durante 34 semanas.

Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas nos teores de AGPI em carpa (*Cyprinus carpio*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e tambacu, híbrido de tambaqui (*Colossoma macroporum*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*), estocados a -20°C por até quarenta e cinco dias (CA STRO et al., 2007).

Príncipe, Pérez e Croci (2009) pesquisaram os efeitos da irradiação e do congelamento a -18°C por 293 dias sobre a composição de ácidos graxos de peixe da Patagônia (*Dissostichus eleginoides*). Os autores observaram que não houve redução nos teores de AGI das amostras irradiadas. Embora a irradiação gere radicais livres capazes de causar oxidação lipídica em AGI, a capacidade destes radicais pode ter sido reduzida pelo congelamento, visto que as amostras foram irradiadas após o congelamento.

As reduções nos teores de EPA e DHA de alguns estudos realizados com peixes estocados sob diferentes condições estão apresentadas na Tabela 2. Pode-se observar uma tendência das reduções nos teores de EPA serem superiores às de DHA.

A quantificação do teor de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um método frequentemente utilizado para a avaliação da oxidação de lipídios em alimentos. Inúmeros autores verificaram, por meio deste método, a formação de produtos secundários da oxidação lipídica em peixes estocados sob refrigeração (FATTOUCH et al. 2008; CHEN et al., 2007; CHAIJAN et al., 2006; JITTREPOTCH, USHIO; OHSHIMA, 2006) e congelamento (NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009; POURASHOURI et al., 2009; TOKUR et al., 2006; BELTRÁN; MORAL, 1991; 1990; PÉREZ-VILLARREAL; HOWGATE, 1991; MAI; KINSELLA, 1979).

Além da análise dos AG e da quantificação de TBARS, inúmeros estudos têm sido realizados para avaliar a ocorrência de oxidação lipídica em pescados durante a

estocagem através da formação de produtos primários da oxidação lipídica como a medida do índice de peróxido e de dienos conjugados (NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009; POURASHOURI et al., 2009; FATTOUCH et al. 2008; CHAIJAN et al., 2006; TOKUR et al., 2006; JITTREPOTCH; JITTREPOTCH, USHIO; OHSHIMA, 2006; REFSGAARD; BROCKHOFF; JENSEN, 1998, 2000; BELTRÁN; MORAL, 1990, 1991; PÉREZ-VILLARREAL; HOWGATE, 1991).

Tabela 2: Porcentagem de redução nos teores de EPA e DHA durante estocagem em diferentes espécies de peixes

Peixe e condições de estocagem	Redução		Referência
	DHA	EPA	
Filé de pescada a -18°C por 120 dias			
Embalagem com alta permeabilidade ao oxigênio	28%	39%	Saldanha, Bragagnolo (2008)
Embalagem com alta permeabilidade ao oxigênio	59%	44%	
Sardinhas inteiras a -18°C por 120 dias	30%	26%	Saldanha, Benassi e Bragagnolo. (2008)
Sardinhas inteiras a -18°C por 120 dias			
Amostras cruas	31%	27%	Saldanha, Bragagnolo (2007)
Amostras grelhadas	18%	28%	
Sardinhas inteiras, gelo a 4°C por 15 dias	19%	6%	C haijan et al. (2006)
Filé de sardinha com pele a -20°C por 120 dias	11%	4%	Castrillon et al. (1996)
Sardinhas inteiras a -18°C por 180 dias	28%	14%	Bel trán, Moral (1990)
Filé de peixe a -18°C por 180 dias			
<i>Scomberomorus commersoni</i>	52%	45%	Nazemroaya, Sahari e Rezaei (2009)
<i>Carcharhinus dussumieri</i>	70%	34%	

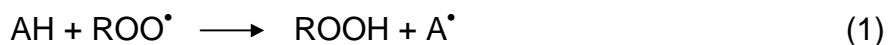
2.5. Uso de antioxidantes em alimentos

Os antioxidantes são compostos que inibem ou retardam os processos oxidativos, responsáveis pela deterioração dos lipídios, sendo, portanto amplamente utilizados na indústria de alimentos.

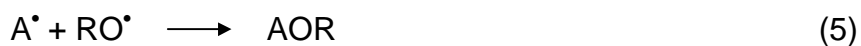
Tendo em conta que a oxidação lipídica ocorre através de um mecanismo de reação em cadeia de radicais, os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER al., 2008; FRANKEL, 1996).

Os antioxidantes primários controlam a propagação da reação em cadeia, inativando os radicais livres tais como os radicais alquila (R^\bullet), alcoxila (RO^\bullet), peroxila (ROO^\bullet) e outras espécies reativas de oxigênio, como os radicais superóxido (O_2^\bullet) e hidroxila (HO^\bullet).

Os antioxidantes sintéticos, tais como o butil hidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), propilgalato (PG) e terc-butil hidroquinona (TBHQ), são os mais utilizados pela indústria alimentícia. A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, transformando-o num composto estável e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais (Reações 1, 2 e 3) (REISCHE et al., 2008):



O radical fenólico pode ainda reagir com outro radical lipídico ou antioxidante, formando compostos não radicalares (Reações 4, 5 e 6):



Os antioxidantes secundários diminuem a taxa de oxidação lipídica através de diferentes modos de ação, podendo:

- quelar metais pró-oxidantes e desativá-los,
- regenerar antioxidantes primários,
- inativar $^1\text{O}_2$ e sensibilizadores no estado excitado,
- sequestrar $^3\text{O}_2$

Os dois tipos de antioxidantes podem agir de forma sinérgica, aumentando a capacidade antioxidante total (JITTREPOTCH; USHIO; OHSHIMA, 2006).

Entretanto, nos dias atuais, o uso dos compostos sintéticos tem sido questionado de forma crescente, quanto aos efeitos deletérios potenciais à saúde humana e a preocupação em substituí-los por antioxidantes naturais tem aumentado consideravelmente (MANSOUR; KHALIL, 2000; FRANKEL, 1996; CUVELIER, 1994).

Os antioxidantes naturais são encontrados em raízes, sementes, vegetais e frutas. Entretanto, a busca por novos antioxidantes é realizada principalmente em ervas e as especiarias. O alecrim e a sálvia são os mais difundidos, porém já foi demonstrado que orégano, tomilho, gengibre, cravo, manjerona, dentre outros, também possuem atividade antioxidante (MARIUTTI et al., 2008a; YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNÝ, 2006; MADSEN; BERTELSEN, 1995; CHIPAULT et al., 1952).

Inúmeros estudos realizados em sistemas modelo demonstraram a ação antioxidante destes compostos (KIOSKAS; DIMAKOU; OREOPOULOU, 2009; SUBHASREE et al., 2009; MISHARINA; POLSHKOV, 2005; MELO et al., 2003; RUBERTO; BARATTA, 2000). Todavia, quando são incorporados aos alimentos, a interação com outros componentes pode afetar de maneira negativa a sua capacidade antioxidante (SCHWARZ et al., 2001; CHIPAULT; MIZUNO; LUNDBERG, 1956). Por esta razão, o estudo do efeito de ervas e condimentos em diferentes matrizes alimentares tem sido realizado por diversos autores (MARIUTTI et al., 2008b; BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005; 2007; JUNTACHOTE et al., 2006;

RACANICCI et al., 2004; MANSOUR; KHALIL, 2000; RAMANATHAN; DAS, 1992), porém as informações relatadas sobre os efeitos de ervas em peixes são escassas (OZOGUL; OZYURT; BOGA, 2009).

Embora os antioxidantes naturais apresentem diversos aspectos positivos, efeitos adversos atribuídos à cor e ao sabor podem limitar o seu uso (JUNTACHOTE et al., 2006).

2.5.1. Coentro

O coentro (*Coriander sativum*) é uma planta da família das Apiaceae, originária da região de Mediterrâneo. Cultivada desde os tempos antigos, atualmente é produzida, comercializada e consumida praticamente no mundo todo. Esta erva aromática é conhecida pelo seu sabor pungente, os seus frutos secos são utilizadas na elaboração do *curry* e na produção de óleos essenciais empregados na indústria alimentícia como flavorizantes. As suas folhas são muito empregadas na culinária da China, México, América do Sul, Índia e Sudeste Asiático. É um tempero amplamente utilizado no Brasil, principalmente no preparo de pratos da região Nordeste (BURDOCK; CARABIN, 2009; MELO et al., 2003; POTTER; FAGERSON, 1990).

O óleo essencial de frutos de coentro é constituído principalmente de terpenoides. O linalol é o constituinte predominante, porém outros compostos fenólicos também estão presentes, tais como geraniol, terpinen-4-ol, α -terpineol, γ -terpineno (Figura 5) (BURDOCK; CARABIN, 2009). Entretanto, durante a avaliação de óleo de folhas de coentro os aldeídos e os alcoóis foram os compostos predominantes e o linalol foi detectado apenas na condição de traços (MATASYOH, 2009). A mesma predominância de aldeídos e alcoóis foi encontrada na composição de compostos voláteis em folhas de coentro (POTTER; FAGERSON, 1990). Portanto pode-se perceber que existe uma diferença importante na composição de folhas e frutos desta erva.

Em um estudo da caracterização de diferentes frações de extratos aquosos de coentro foi detectada, dentre outros compostos fenólicos, a presença de glicitina, ácido protocatequínico e altas concentrações de ácido cafeico (Figura 5). A este ácido,

derivado do grupo dos ácidos hidroxicinâmicos, são atribuídas propriedades antioxidantes devido à sua estrutura de anel ortodihidroxibenzênico, que facilita a doação de hidrogênio e a existência de uma cadeia alifática insaturada no anel aromático, que aumenta a estabilidade do radical fenol por ressonância (MELO; MANCINI FILHO; GUERRA, 2005).

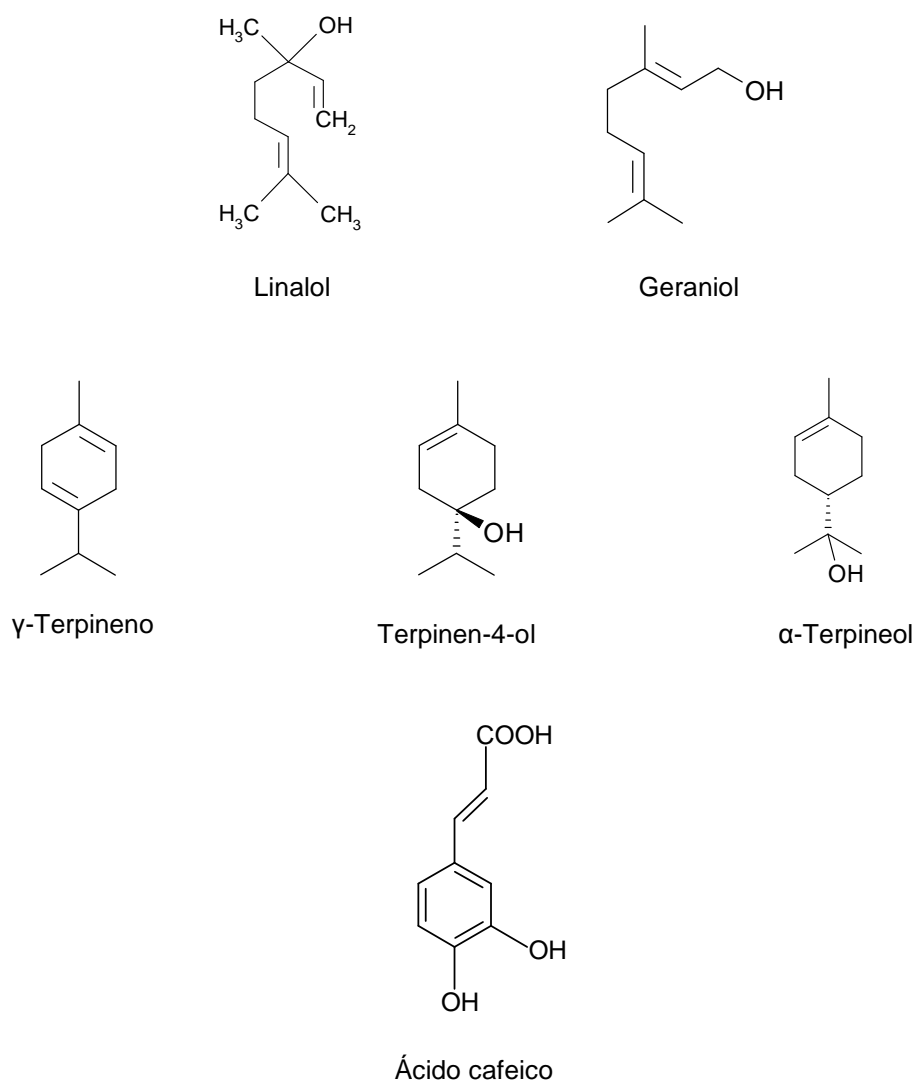


Figura 5: Estrutura de compostos presentes no coentro.

Estudos realizados em diferentes sistemas modelo verificaram a capacidade antioxidante do coentro, atribuída aos compostos fenólicos. Portanto, seu modo de ação

seria similar ao dos antioxidantes sintéticos (YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNÝ; 2006; MELO et al., 2003; MISHARINA; POLSHKOV, 2005; KAUR; KAPPOR, 2002; RUBERTO; BARATTA, 2000). Porém, os estudos realizados em matrizes alimentares são escassos.

Os dados da literatura reportam que a maioria dos estudos foi realizada com o óleo essencial de coentro. Entretanto, Wangesteen, Samuelsen e Malterud (2004) sugerem a inclusão de folhas e sementes de coentro em alimentos como antioxidantes. Os autores avaliaram a capacidade antioxidante do óleo e de extratos de folhas e sementes de coentro com solventes de diferentes polaridades (etanol, diclorometano, acetato de etila e n-butanol), por meio da inibição da peroxidação de fosfolípidios e de reações com o radical DPPH (2,2'-difenil-β-picrilhidrazil) e com a enzima 15-lipoxigenase. Foi observado que tanto as folhas como as sementes possuem atividade inibitória concentração-dependente para a enzima 15 lipoxigenase e propriedade inativadora de radicais. A ação dos extratos de folhas foi mais potente que a de sementes e os extratos de polaridade média foram mais eficientes, ocorrendo ainda correlação direta entre compostos fenólicos totais e efeito antioxidante.

Por outro lado, durante estudo comparativo utilizando os radicais DPPH e ABTS^{•+} em extratos etanólicos de ervas e condimentos comercializados no Brasil, o coentro apresentou baixa capacidade antioxidante (MARIUTTI et al. 2008a).

Em um dos raros estudos realizados com alimentos, ao se comparar a ação de TBHQ, com a combinação de BHA e BHT e diferentes antioxidantes naturais, tais como açafrão, coentro, folhas de *curry* e espinafre adicionados a um produto lácteo indiano semelhante ao queijo cotage (*sandesh*), pela análise de atividade antirradical ABTS^{•+} [2,2'-azi-nobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], verificou-se menor atividade antioxidante do coentro quando comparado aos demais compostos e ervas analisados (BANDYOPADHYAY; CHAKRABORTY; RAYCHAUDHURI, 2007).

O óleo essencial de coentro foi aprovado para uso em alimentos pelo FDA, entrando na categoria GRAS - geralmente reconhecido como seguro - ou seja, sem

limitações para o uso como agente flavorizante, podendo, no futuro, ser utilizado com antioxidante (BURDOCK; CARABIN, 2009).

2.5.2. Urucum

O urucum é um pigmento natural extraído da superfície externa das sementes da árvore *Bixa orellana*, que cresce abundantemente nas regiões tropicais. É um condimento utilizado na culinária do México e da América do Sul, adicionado às preparações a base de carne de peixe, porco, frango, milho e arroz, realçando a sua cor e o seu sabor (GALINDO-CUSPINERA; RUBRAN; RANKUN, 2002).

Na indústria alimentícia, estes pigmentos são utilizados para dar cor à manteiga, queijos, sorvetes, óleos, molhos e cereais, com a vantagem de possuir um custo relativamente baixo quando comparados a outros corantes naturais (CARDARELLI; BENASSI; MERCADANTE, 2008; KIOSKIAS; GORDON, 2003).

A toxicidade do urucum vem sendo analisada desde a década de 70, devido ao seu amplo emprego na indústria de alimentícia. Na década de 70, a ingestão diária aceitável de bixina (IDA) foi estabelecida em até 1,25 mg de pigmento/kg de peso corporal. Esse valor foi revisto em 1982 e a IDA foi diminuída para até 0,065 mg/kg de peso corporal. No último Encontro do Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares (Expert Committee on Food Additives - JECFA) da WHO e FAO realizado em 2006, a IDA ficou estabelecida em até 12 mg/kg de peso corporal (FAO/WHO, 2007).

A legislação brasileira autoriza a adição de 0,002 g de urucum /100 g de carnes ou produtos cárneos, como aromatizante ou corante, somente em sua superfície (D.O.U., 1999). Se por um lado a legislação estabelece a normatização do emprego do urucum como corante, o mesmo não ocorre para a sua utilização como antioxidante.

Embora diversos carotenoides tenham sido identificados nas sementes de urucum, a bixina é o pigmento majoritário, respondendo por 80% deste total. Este composto lipossolúvel possui dois grupamentos carboxílicos, sendo um deles

esterificado (Figura 6) (MERCADANTE; STECK; PFANDER, 1997; MERCADANTE et al. 1999).

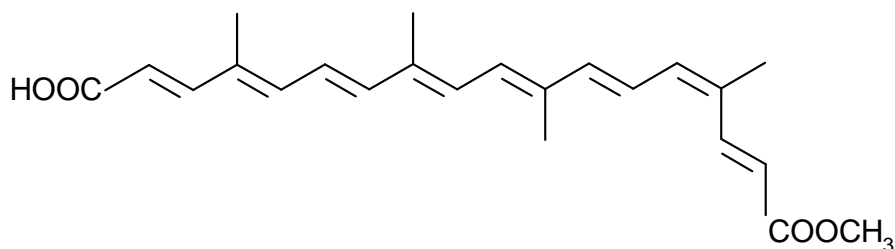


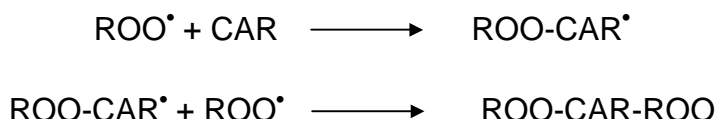
Figura 6: Estrutura da bixina.

Através da análise de corantes comerciais de urucum por cromatografia gasosa - espectrometria de massas foi detectada a presença de mais de 100 diferentes compostos voláteis. Dentre eles foram identificados inúmeros terpenoides (GALINDO-CUSPINERA; RUBRAN; RANKUN, 2002), hábeis na desativação de radicais livres que poderiam ter efeito sinérgico com os carotenóides do urucum.

Os carotenoides são pigmentos naturais com coloração variando do amarelo ao vermelho, sendo que alguns deles possuem comprovada atividade de pró-vitamina A. Porém muitas investigações têm sido realizadas para elucidar outras funções que possuem, tais como: a prevenção de DCV, da degeneração macular relacionada com a idade e a redução do risco de alguns tipos de câncer (BERG et al., 2000). Alguns desses benefícios estão associados com a sua atividade antioxidante.

Como a maioria dos carotenóides, a bixina é um eficiente inativador do $^1\text{O}_2$ e de sensibilizadores no estado excitado, espécies reativas conhecidas por promover a oxidação de lipídios, proteínas e vitaminas. Soma-se a isso o fato de que carotenoides, em baixas concentrações de oxigênio, podem desativar radicais livres, interrompendo a propagação da oxidação (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008; RIOS; MERCADANTE; BORSARELLI, 2007; MONTENEGRO et al., 2004; RE et al., 1999). A

inativação dos radicais livres ocorreria através mecanismos de adição com formação de produtos não radicalares (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007; HAILA; LIENOVEN; HEINONEN, 1996):



Embora seja amplamente empregada na indústria alimentícia, as informações sobre as propriedades antioxidantes da bixina nos alimentos são escassas.

Este carotenoide mostrou ser um forte agente antioxidante frente à ação da cisplatina (potente agente citotóxico utilizado no tratamento anti-câncer), inibindo a geração de espécies reativas de oxigênio (RIOS; ANTUNES; BIANCHI, 2009) e a peroxidação lipídica em estudo *in vivo* (SILVA; ANTUNES; BIANCHI, 2001).

A atividade antioxidante da bixina na autoxidação de triacilgliceróis foi observada em um estudo envolvendo γ -tocoferol e diferentes carotenóides, tais como luteína, β -caroteno e licopeno. Em contraste com os efeitos pró-oxidantes da luteína e do licopeno quando não estavam combinados com o γ -tocoferol, a bixina mostrou ser um antioxidante eficiente, mesmo quando não associada ao γ -tocoferol (HAILA; LIENOVEN; HEINONEN, 1996).

Durante a caracterização de extratos de diferentes polaridades de urucum, foi detectada a presença de carotenoides e de compostos fenólicos. Neste mesmo estudo houve correlação positiva entre o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante, que foi determinada pela análise de atividade antirradical ABTS^{•+} (CARDARELLI; BENASSI; MERCADANTE, 2008).

Em estudo realizado com extratos etanólicos de 23 ervas e condimentos comercializados no Brasil, foi verificada a baixa atividade de aprisionamento de radicais

ABTS^{•+} no colorífico, condimento preparado à base de urucum e fubá (MARIUTTI et al., 2008a).

Em estudo das propriedades antioxidantes do β -caroteno, extratos lipossolúveis e hidrossolúveis de urucum em óleo de oliva e emulsão de água em óleo durante estocagem a 60°C, a bixina foi o único carotenoide a inibir a oxidação lipídica, determinada pela medida do índice de peróxido, de dienos conjugados e quantificação de hexanal, nos dois sistemas (KIOSKIAS; GORDON, 2003).

A bixina apresentou importante ação inibitória na formação de dienos conjugados e TBARS quando se examinou a influência da adição de preparações de carotenoides naturais em emulsão de óleo de girassol em água (KIOSKIAS; DIMAKOU; OREOPOULOU, 2009).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição de coentro e urucum como antioxidantes naturais em filé de pescada branca, durante o tratamento térmico e estocagem, através da composição de AG e durante a estocagem por meio da formação de compostos secundários da oxidação lipídica.

3.2. Objetivos específicos

Investigar a ação do coentro e urucum na estabilidade dos AG em filé de pescada branca submetido a cozimento em água a $95 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos.

Avaliar o efeito da adição de coentro e urucum na estabilidade dos AG em filé de pescada branca cru armazenado por 120 dias a -18°C em filme de PEBD sendo analisado a cada 30 dias após descongelamento e cozimento em água a $95 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos.

Investigar a ocorrência de oxidação lipídica e o efeito da adição dos antioxidantes durante o armazenamento de filé de pescada branca cru por meio da quantificação do teor de TBARS.

Verificar a possibilidade de ação sinérgica entre coentro e urucum frente à oxidação lipídica.

Determinar o teor de umidade, os lipídios totais, e a composição de AG em filé de pescada branca cru e submetido a tratamento térmico após os tempos de estocagem.

Realizar a caracterização do coentro, através da determinação de carotenoides totais, fenólicos totais e clorofila total.

Quantificar o teor de bixina nas amostras de filé de pescada branca adicionadas de urucum e urucum/coentro.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Preparo das amostras

Foram adquiridos 12 kg de filé de pescada branca (*Cynoscion* spp) no comércio local de Campinas, provenientes do estado do Pará, Brasil. Após remoção da pele, cartilagens e tecidos conectivos, os 10,4 kg restantes de filé de peixe foram triturados em processador doméstico até a obtenção de uma massa homogênea. Foram adicionados ao filé de peixe processado, coentro, urucum e coentro mais urucum de acordo com a Figura 7. Após a adição dos condimentos, foram moldadas almôndegas de 50 ± 2 g. Para cada amostra foram utilizadas duas almôndegas, cruas ou cozidas, trituradas em almofariz. Alíquotas convenientes foram retiradas para cada análise. No tempo zero as almôndegas foram analisadas cruas e cozidas em 600 ml de água a $95 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos, com temperatura interna a $91 \pm 1^\circ\text{C}$ no final do cozimento. O controle da temperatura foi realizado com termômetro de punção digital calibrado (Traceable Long-Stem, VWR). As demais almôndegas cruas foram embaladas em filme de PEBD (0,6 μm de espessura), acondicionadas em sacos de PEBD (6 μm de espessura), congeladas em freezer a -18°C por 120 dias e retiradas após 30, 60, 90 e 120 dias para análise. Após o descongelamento elas foram cozidas da mesma forma que no tempo zero. A determinação do teor de lipídios, a umidade e a composição dos ácidos graxos foram realizadas em triplicata. Os tratamentos receberam a seguinte codificação: P - amostra controle, C - amostra com adição de 0,5% de coentro, U - amostra com adição de 0,1% de urucum e UC - amostra com adição de 0,1% de urucum e 0,5% de coentro.

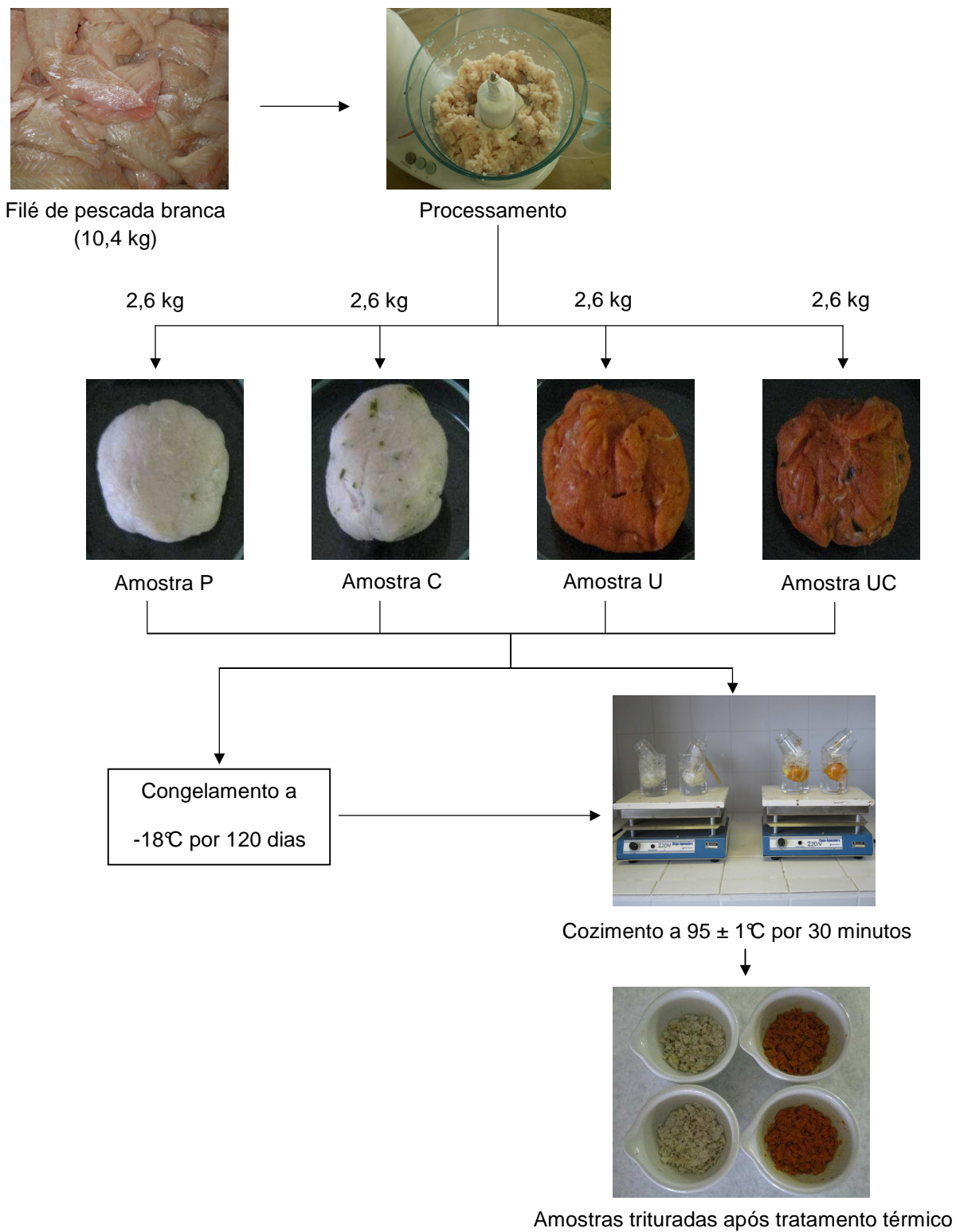


Figura 7: Preparo das amostras: P - controle, C - 0,5% coentro, U - 0,1% urucum e UC - 0,1% urucum + 0,5% coentro.

O coentro fresco foi adquirido no comércio local de Campinas, São Paulo. Após lavagem e secagem, as folhas e os talos foram separados e 15 g de folhas foram finamente picadas.

As sementes de urucum foram adquiridas do município de Monte Castelo, São Paulo. Para a obtenção do pó de urucum que foi adicionado à carne de peixe, 15 g de sementes foram trituradas em moedor de café elétrico (Eastern Eletric, CM 180) e passadas em uma peneira de 100 *mesh*.

4.1.2. Reagentes

Uma mistura de padrões contendo ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) de 4:0 a 24:0 (FAME Mix C4-C24, Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA e FAME 22:4n-6, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) foram os padrões utilizados para identificação dos ácidos graxos.

Os padrões internos utilizados para a quantificação foram os ésteres metílicos do ácido tridecanóico (13:0) e do ácido nonadecanóico (19:0) da marca Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Os solventes, sais, ácidos e reagentes utilizados nas diferentes análises foram de grau analítico das marcas Synth (Diadema, São Paulo) e Merck (Darmstadt, Alemanha). O hexano utilizado para a injeção da amostra no cromatógrafo foi de grau HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha).

4.2. Métodos

Para a verificação da ação de coentro e urucum como antioxidantes naturais em filé de pescada branca, determinações para caracterização do coentro e quantificação da bixina, as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.1. Caracterização do coentro

A caracterização do coentro foi realizada através da determinação dos carotenoides totais, fenólicos totais e clorofila total.

4.2.1.1. Extração e quantificação dos carotenoides totais

Os carotenoides foram extraídos exaustivamente de acordo com De Rosso e Mercadante (2007). Cinco gramas de amostra adicionadas de acetona foram maceradas em almofariz e filtradas em funil de Bücher. Em seguida o filtrado foi transferido para éter etílico/éter de petróleo (2:1), saponificado durante uma noite em temperatura ambiente com KOH metanólico a 10% e lavado com água até remoção completa do álcali. Para remoção da água foi adicionado sulfato de sódio anidro ao extrato, que posteriormente teve o seu solvente evaporado em evaporador rotatório. ($T < 40^{\circ}\text{C}$). Todo o procedimento foi realizado em ambiente com iluminação de baixa intensidade.

O teor dos carotenoides foi determinado através da absorbância, medida no comprimento de onda máximo ($\lambda \text{ max.}$), em espectrofotômetro de arranjo de diodos (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA), na faixa de 260 a 600 nm. A concentração de carotenoides foi calculada utilizando o valor de absortividade de 2592 para β -caroteno em éter de petróleo (BRITTON, 1995).

4.2.1.2. Extração e quantificação dos fenólicos totais

Os compostos fenólicos foram extraídos exaustivamente, de acordo com Singleton e Rossi (1965). Dois g de coentro adicionados de metanol/água (8:2) foram macerados em almofariz e filtrados em funil de Bücher a vácuo. O extrato foi evaporado em evaporador rotatório a ($T < 40^{\circ}\text{C}$), ressuspendido em água, mantido em freezer por

20 minutos e centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos. Todo o procedimento foi realizado em ambiente com iluminação de baixa intensidade.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada através da reação com o reagente Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Alemanha), segundo o procedimento de Singleton e Rossi (1965). Resumidamente: 1 ml de extrato foi transferido para um balão volumétrico de 25 ml, contendo 9 ml de água ao qual foi adicionado 1 ml de reagente Folin-Ciocalteu. Após 5 minutos foram adicionados 10 ml de solução de Na_2CO_3 a 7% e volume completado com água. A solução foi incubada durante 90 minutos no escuro. O mesmo procedimento foi realizado para as diferentes concentrações de padrão de ácido gálico utilizadas na construção de curva de calibração. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro de arranjo de diodos (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA) a 765 nm.

A quantificação foi realizada com base na curva padrão de ácido gálico (Extrasynthèse, Genay, França) (2,0-8,0 mg/l) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/100 g de amostra.

4.2.1.3. Extração e quantificação da clorofila

Amostras de 1 g de coentro foram maceradas em almofariz, adicionadas de 5 ml de acetona/água (8:2). O material foi filtrado a vácuo e transferido para um balão volumétrico de 25 ml, sendo o volume completado com acetona/água (8:2).

A absorbância da solução foi lida em espectrofotômetro (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA) a 647 e 663 nm.

Os teores de clorofilas totais, *a* e *b* foram calculados de acordos com as Equações 1, 2 e 3 propostas por Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofilas totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{647}) \quad (\text{Eq.1})$$

$$\text{Clorofila } a = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{647}) \quad (\text{Eq.2})$$

$$\text{Clorofila } b = 21,50 (A_{647}) - 5,10 (A_{663}) \quad (\text{Eq.3})$$

onde A_{663} e A_{647} correspondem às absorvâncias a 663 e 647 nm, respectivamente. As concentrações de clorofila obtidas através da absorvância foram calculadas em $\mu\text{g/mL}$ de solução de extrato de coentro.

4.2.2. Extração e quantificação da bixina nos filés de pescada branca

A determinação de bixina foi realizada de acordo com o método desenvolvido por Castro (2008), nas amostras adicionadas de urucum e urucum/coentro, cruas e cozidas no tempo zero e nas amostras estocadas e submetidas a tratamento térmico após descongelamento nos tempos 30, 90 e 120. A bixina também foi determinada no pó de urucum.

Dois gramas de amostra foram extraídos com 10 ml de acetona em agitador mecânico por 30 segundos e em ultrassom por 5 minutos. Após adição de 5 ml de metanol a amostra foi levada novamente ao banho de ultrassom por 5 minutos. O extrato foi filtrado em funil de Bücher a vácuo e transferido para um funil de separação. Foram adicionados 0,5 ml de água destilada e 100 ml de solução acetato de etila/ éter etílico (1:1). O filtrado foi lavado com água destilada até remoção completa da acetona. A fase apolar, contendo a bixina, foi filtrada com sulfato de sódio anidro. O extrato foi seco em evaporador rotatório ($<40^{\circ}\text{C}$) e posteriormente transferido com diclorometano para um balão volumétrico de 10 ml.

A leitura da absorbância foi realizada a 468 nm em espectrofotômetro (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA) (LARA, 1984). e a concentração da bixina foi calculada em mg/g utilizando o coeficiente de absorção de 2826 (FAO/WHO, 1982). As análises foram realizadas em ambiente com incidência de luz reduzida.

4.2.3. Teor de lipídios totais e umidade

O teor de lipídios totais e a umidade foram analisados nas amostras controle e submetidas aos diferentes tratamentos. No tempo zero foram analisadas as amostras cruas e cozidas e nos tempos 30, 60, 90 e 120 as amostras foram analisadas após terem sido descongeladas a temperatura ambiente (22 °C) e cozidas.

A determinação dos lipídios totais foi realizada por gravimetria segundo Folch, Less e Stanley (1957). Após a obtenção dos extratos, estes foram acondicionados em frascos âmbar, sob atmosfera de nitrogênio e armazenados em freezer a -18°C, até o momento das análises.

Para medida do teor de umidade, alíquotas de $2,0 \pm 0,1$ g de amostra foram pesadas em placas de Petri previamente taradas. As amostras foram secas em estufa a 105°C até peso constante, de acordo com metodologia da AOAC (1997). Após terem sido retiradas da estufa, as placas foram colocadas em dessecador com sílica gel e posteriormente pesadas. A umidade foi determinada pela diferença entre as massas.

4.2.4. Determinação de ácidos graxos

Uma alíquota do extrato lipídico obtido segundo Folch, Less e Stanley (1957), contendo 25 ± 1 mg de óleo foi saponificada e os AG convertidos a EMAG de acordo com a metodologia de Joseph e Ackman (1992). A saponificação foi realizada com 1,5 ml de NaOH metanólico 0,5 N e aquecimento a 100°C por 5 minutos e a esterificação com adição de 2 ml de BF₃ (trifluoreto de boro) em metanol e aquecimento a 100°C por 30 minutos. Aos EMAG, extraídos duas vezes com isoctano, foram adicionados 0,1 mg

de éster metílico de ácido tridecanoico e 0,5 mg de éster metílico de ácido nonadecanoico para posterior quantificação. Após a extração, o isoctano foi evaporado. Os EMAG foram posteriormente diluídos em hexano para injeção em cromatógrafo gasoso.

Foi utilizado um cromatógrafo a gás (modelo GC2010, SHIMADZU, Kyoto, Japão), equipado com um injetor split (1/50) a 250°C, coluna capilar de sílica fundida (100 m comprimento, 0,25 mm d.i., 0,20 µm espessura de fase estacionária) (CP-SIL 88, Chromopack, Middleburg, Holanda); detector de ionização em chama (FID) a 260°C e workstation (GCSolution, SHIMADZU, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna cromatográfica foi programada com início a 120°C mantendo-se nessa temperatura por 8 minutos, aumentando para 160°C, com taxa de 20°C por minuto, mantendo-se nesta temperatura por 4 minutos, aumentando novamente a 3°C por minuto até 195°C permanecendo por 10 minutos, aumentando a 35°C por minuto até 220°C, mantendo-se nesta temperatura por 3 minutos e finalmente aumentando a 20°C por minuto até 240°C e mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos, totalizando 46 minutos de corrida. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com velocidade linear de 34 cm/s e o gás *make up*, nitrogênio com fluxo de 30 ml/min. O volume de injeção foi de 2 µl através da técnica de *hot needle* por 5 segundos.

A identificação dos ésteres metílicos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos dos padrões com os tempos de retenção da amostra. A quantificação dos AG foi realizada por comparação da área de cada EMAG com a área do padrão interno, utilizando os fatores de conversão de ésteres metílicos para AG e os fatores de correção de resposta do FID teórico em relação ao 16:0.

A utilização deste fator de correção é necessária porque o FID não responde da mesma maneira para todos os compostos orgânicos. A sua resposta é proporcional ao número de carbonos ativos, ou seja, carbonos ligados apenas ao hidrogênio. No caso dos AG e seus ésteres metílicos, a presença de dois átomos de oxigênio na molécula proporcionam uma diferença na porcentagem de massa de carbono nas moléculas e, conseqüentemente, uma resposta do detector que não é correspondente ao número de carbonos ativos (JOSEPH; ACKMAN, 1992).

A determinação da concentração de cada ácido graxo foi realizada de acordo com a Equação 4:

$$[AG] = \frac{mPI \times \text{áreaEMAG} \times FIDx / FID16:0 \times Fc \times LTAmostra}{mAmostra \times \text{áreaPI}} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde:

m PI = massa do padrão interno (13:0 ou 19:0) adicionada à amostra

área EMAG = área do EMAG no cromatograma

FIDx/FID16:0 = fator de resposta de cada EMAG no FID em relação ao 16:0

Fc = fator de conversão de EMAG para AG

LT Amostra = lipídios em g/100g de amostra

m Amostra = massa da amostra em g

área PI = área do PI (13:0 ou 19:0) no cromatograma

sendo o resultado expresso em mg de AG/100 g de amostra

4.2.5. Análise das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação de TBARS foi realizada de acordo com Vyncke (1970) com algumas modificações (SØRENSEN; JØRGENSEN, 1996). As amostras cozidas, submetidas aos diferentes tratamentos foram submetidas às análises nos tempos zero, 60 e 120. Cinco gramas de amostra foram adicionadas de 15 ml de solução contendo ácido tricloracético (TCA) 7,5%, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1% e galato de propila (PG) 0,1%, homogeneizadas (45 s, 13500 rpm em agitador mecânico) e filtradas. Cinco mL do filtrado foram misturados com 5 ml de 0,02 M de ácido tiobarbitúrico (TBA) e colocados em banho de água em ebulição por 40 minutos. A absorbância foi lida a 532 e 600 nm em espectrofotômetro (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA). O valor de TBARS foi expresso em μmol de malonaldeído (MDA) por kg de matéria úmida usando curva padrão construída com concentrações de 1,1,3,3-

tetraetoxipropano (TEP, Merck, Darmstadt, Alemanha) variando de 0,1 a 9,0 $\mu\text{mol/l}$. As amostras foram analisadas em duplicata.

4.3. Análise estatística dos dados

Os dados obtidos foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) pelo software STATISTICA (2000), versão 5.5 (StatSoft Inc., OK, USA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey para $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características do coentro

A caracterização do coentro foi realizada através da quantificação dos compostos fenólicos totais, carotenoides totais e clorofila total, *a* e *b*. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Teor de fenólicos totais, carotenoides e clorofila em coentro

Composto	M \pm DP
Fenólicos totais (mg/g)	0,89 \pm 0,1
Carotenoides totais (mg/g)	0,18 \pm 0,0
Clorofila Total ($\mu\text{g/g}$)	43,5 \pm 9,9
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/g}$)	26,1 \pm 3,0
Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g/g}$)	17,4 \pm 6,9

M \pm DP = média \pm desvio padrão de análises em triplicatas

O teor de fenólicos totais no presente trabalho foi de 0,89 \pm 0,1 mg/g, resultado próximo aos 0,82 mg/g determinados por Kaur e Kapoor (2002) em extrato etanólico de

coentro. Melo et al. (2003) determinaram 27,3 mg/g e 1,28 mg/g de fenólicos totais em extratos aquosos e etanólicos de coentro. Durante avaliação de diferentes frações de extratos aquosos de coentro, separadas em coluna de sílica, foram encontradas concentrações que variaram de 4,42 a 17,08 mg/g de fenólicos totais (MELO et al., 2005). As diferenças encontradas entre os estudos podem estar relacionadas com a técnica e o tipo de solvente utilizado para a extração dos compostos.

A concentração de carotenoides totais nas folhas frescas de coentro foi de 0,18 mg/g. Kamat et al. (2003) reportam concentrações de carotenoides totais de 0,53 mg/g para extratos obtidos a partir de folhas frescas de coentro e solução de acetona/*n*-hexano (75:60 v/v) adicionada de 0,1% de BHT. Guerra, Melo e Mancini Filho (2005) determinaram concentrações de 0,53 mg/g extraídas de pó de folhas de coentro desidratadas e éter etílico.

A concentração de clorofila total foi de $43,5 \pm 9,9$ µg/g, obtida a partir da soma das concentrações das clorofilas *a* e *b*. Este resultado é inferior ao valor reportado por Kamat et al (2003), que indicam concentrações de 1770 µg/g para extratos feitos a partir de folhas frescas de coentro e acetona.

A divergência entre os resultados do presente trabalho e os dos estudos supracitados pode ser atribuída a diversos fatores. Merece destaque a metodologia empregada na análise, a forma de utilização da folha de coentro (fresca ou desidratada), o emprego de antioxidante durante a extração do composto e, principalmente, os diferentes solventes utilizados na elaboração dos extratos. Além disso, fatores diretamente relacionados à composição do coentro (origem, época e condições de cultivo e colheita) também devem ser considerados.

5.2. Teores de bixina nos filés de pescada branca

Os teores de bixina das amostras submetidas a tratamento térmico e das amostras armazenadas sob congelamento, em base seca, estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

A análise dos resultados no tempo zero (Tabela 4) demonstra que não ocorreram diferenças entre as amostras cruas ou cozidas adicionadas de urucum e urucum/coentro. O tratamento térmico não ocasionou reduções significativas nos teores de bixina.

Tabela 4: Teores de bixina (mg/g) obtidos em filé de pescada branca cru e após tratamento térmico no tempo zero

Amostras	M \pm DP
Urucum cru	1,13 \pm 0,3 ^a
Urucum cozido	0,76 \pm 0,08 ^{a,b}
Urucum/Coentro cru	0,83 \pm 0,03 ^{a,b}
Urucum/Coentro cozido	0,56 \pm 0,05 ^b

M \pm DP = média \pm desvio padrão de análises em triplicatas
Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

A bixina durante o período de estocagem (Tabela 5), de uma maneira geral, se manteve constante, visto que não ocorreu diminuição significativa das concentrações no final da estocagem quando comparadas com o tempo zero, em ambos os tratamentos. As pequenas variações encontradas durante o período de estocagem podem estar relacionadas com a não uniformidade da sua distribuição no filé de pescada branca.

Tabela.5: Teores de bixina (mg/g) obtidos em filé de pescada branca submetido a tratatamento térmico após a estocagem

	Período de estocagem (dias)			
	0	30	90	120
U	0,76±0,08 ^a	0,66±0,01 ^{a,b,c}	0,52±0,02 ^c	0,63±0,04 ^{a,b,c}
UC	0,57±0,05 ^c	0,74±0,06 ^{a,b}	0,58±0,03 ^c	0,61±0,04 ^{b,c}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

Amostras: U - 0,1% urucum e UC - 0,1% urucum+0,5% coentro.

5.3. Teores de umidade e de lipídios totais

Os teores de umidade e lipídios totais (em base seca) das amostras cruas e submetidas a tratamento térmico no tempo zero e das amostras armazenadas com subsequente tratamento térmico estão apresentados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Embora o tratamento térmico tenha resultado em redução da umidade (Tabela 6), em todas as amostras ela foi inferior a 5,5%, sendo que as amostras com adição de coentro apresentaram a menor diminuição. Esse mesmo tipo de tratamento térmico foi o que resultou em menor redução de umidade em um estudo comparativo entre diferentes métodos de cocção de salmão (GLADYSHEV et al., 2006).

Tabela 6: Umidade (g/100g) e lipídios totais (base seca) em filé de pesca branca cru e submetido a tratamento térmico

Amostras	CRU		COZIDO		
	P	P	C	U	UC
Umidade	80,2 ±0,4 ^a	76,2 ±0,1 ^d	78,3 ±0,8 ^b	77,2 ±0,4 ^c	75,9 ±0,1 ^d
Lipídios totais	16,1 ±0,7 ^a	13,1 ±1,0 ^{a,b}	14,7 ±1,0 ^{a,b}	12,8 ±0,1 ^b	14,3 ±0,0 ^{a,b}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

Amostras: P - controle, C - 0,5% coentro, U - 0,1% urucum e UC - 0,1% urucum + 0,5% coentro.

O teor de umidade (Tabela 7) variou nos diferentes tratamentos e tempos de estocagem de $75,4 \pm 0$ a $78,8 \pm 0,1$ g/100 g. Embora não tenha ocorrido um padrão de comportamento nas alterações da umidade e para a maioria das amostras poderia ser explicada como resultado de variações individuais, a estocagem resultou em significativa diminuição de água. Ao final de 120 dias de estocagem a umidade das amostras controle teve uma redução de 6% (Figura 8). Decréscimos significativos na umidade foram reportados por Saldanha, Benassi e Bragagnolo (2008) para sardinha crua e grelhada e por Saldanha e Bragagnolo (2007) para pescada crua e grelhada, em ambos os trabalhos as amostras foram estocadas a -18°C por 120 dias.

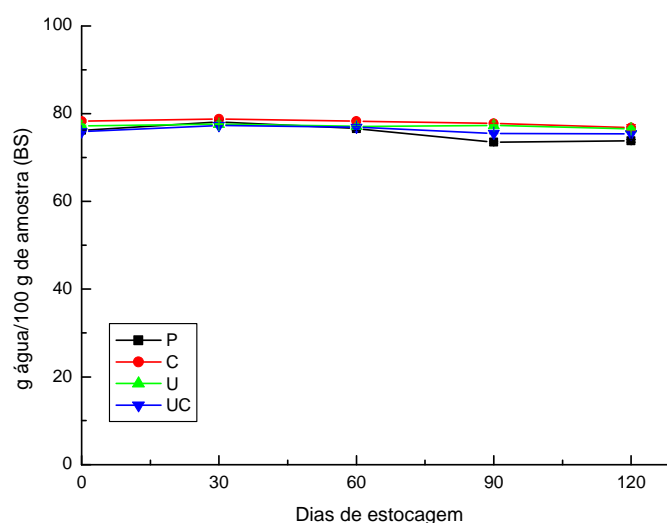


Figura 8: Umidade (g/100 g) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% coentro, U - 0,1% urucum, UC - 0,1% urucum + 0,5 % coentro. As barras são os desvios padrão de três determinações.

Os teores de lipídios totais em base úmida no tempo zero das amostras cruas e das amostras submetidas a tratamento térmico foram $3,2 \pm 0,1$ g e $3,1 \pm 0,2$ g/100 g, respectivamente, revelando que o cozimento em água a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ não causou

alterações nos teores de gordura. De acordo a classificação proposta por Ackman, (1989), na qual os peixes podem ser distribuídos em quatro grupos, em função de seus teores de gordura (magro <2%, baixo teor 2-4%, médio teor 4-8% e alto teor >8%), a pescada branca pode ser classificada como um peixe com baixo teor de gordura.

Tabela 7: Umidade e lipídios totais em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Umidade (g/100g)					
Tempo (dias)	Zero	30	60	90	120
P	76,2±0,1 ^{g,h,i}	78,1±0,5 ^{a,b,c}	76,6±0,5 ^{f,g,h}	73,5±0,2 ^j	73,8±0,3 ^j
C	78,3±0,3 ^{a,b}	78,8±0,1 ^a	78,3±0,2 ^{a,b}	77,8±0,1 ^{b,c,d}	76,8±0,7 ^{e,f,g,h}
U	77,2±0,4 ^{c,d,e,f}	77,6±0,0 ^{b,c}	77,1±0,1 ^{d,e,f,g}	77,3±0,1 ^{c,d,e,f}	76,5±0,2 ^{f,g,h}
UC	75,9±0,1 ^{h,i}	77,3±0,0 ^{c,d,e,f}	76,9±0,2 ^{d,e,f,g}	75,5±0,1 ⁱ	75,4±0,0 ⁱ
Lipídios totais (g/100g, base seca)					
Tempo (dias)	Zero	30	60	90	120
P	13,1±1,0 ^{a,b,c,d}	14,7±0,3 ^{a,b}	14,6±0,1 ^{a,b,c}	10,2±1,0 ^g	10,9±0,6 ^{f,g}
C	14,7±1,0 ^{a,b}	13,9±0,2 ^{a,b,c,d,e}	13,1±0,6 ^{b,c,d,e}	12,7±0,3 ^{b,c,d,e,f}	11,7±0,1 ^{e,f,g}
U	12,8±0,1 ^{b,c,d,e,f}	14,1±0,5 ^{a,b,c,d}	12,4±0,2 ^{c,d,e,f,g}	12,3±0,1 ^{d,e,f,g}	12,7±0,1 ^{b,c,d,e,f}
UC	14,3±0,0 ^{a,b,c,d}	15,8±0,6 ^a	14,5±0,0 ^{a,b,c}	11,7±0,8 ^{e,f,g}	12,1±0,4 ^{d,e,f,g}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

Amostras: P - controle, C – 0,5% coentro, U – 0,1% urucum e UC – 0,1% urucum + 0,5% coentro.

Os teores de lipídios em pescada branca fresca, quando calculados em base seca, foram de 13,1 ± 0,7 g/100 g. Estes valores estão de acordo com os 14,6 g/100 g encontrados por Mendéz e González (1997) em pescadas (*Merluccius merluccius*) capturadas em março de 1992 e são superiores aos valores encontrados por Visentainer et al. (2007) em pescada goete (*Cynoscion jamaicensis*). Embora os três tipos de peixes analisados sejam classificados como pescada, deve-se considerar que pertencem a gênero ou espécie diferentes.

Não foram verificadas alterações significativas nos teores de lipídios totais (p>0,05) decorrentes do tratamento térmico, exceto para as amostras adicionadas de

urucum. No que diz respeito ao armazenamento e posterior cocção, ligeiras alterações foram encontradas nos diferentes tratamentos e tempos de estocagem, que provavelmente ocorreram em consequência da não uniformidade das amostras (Figura 9).

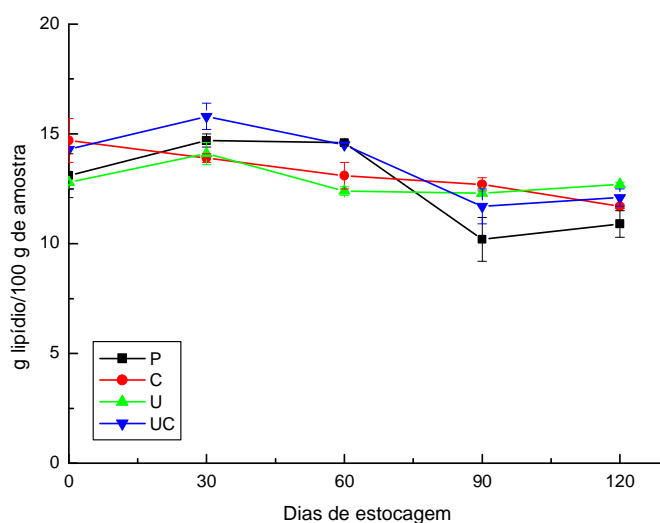


Figura 9: Lipídios totais (g/100 g em base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% coentro, U - 0,1% urucum, UC - 0,1% urucum + 0,5 % coentro. As barras são os desvios padrão de três determinações.

5.4. Composição dos ácidos graxos

A análise por cromatografia gasosa permitiu a separação de 45 EMAG. Dentre eles, 22 puderam ser identificados pela comparação dos tempos de retenção dos padrões com os tempos de retenção das amostras (Figura 10).

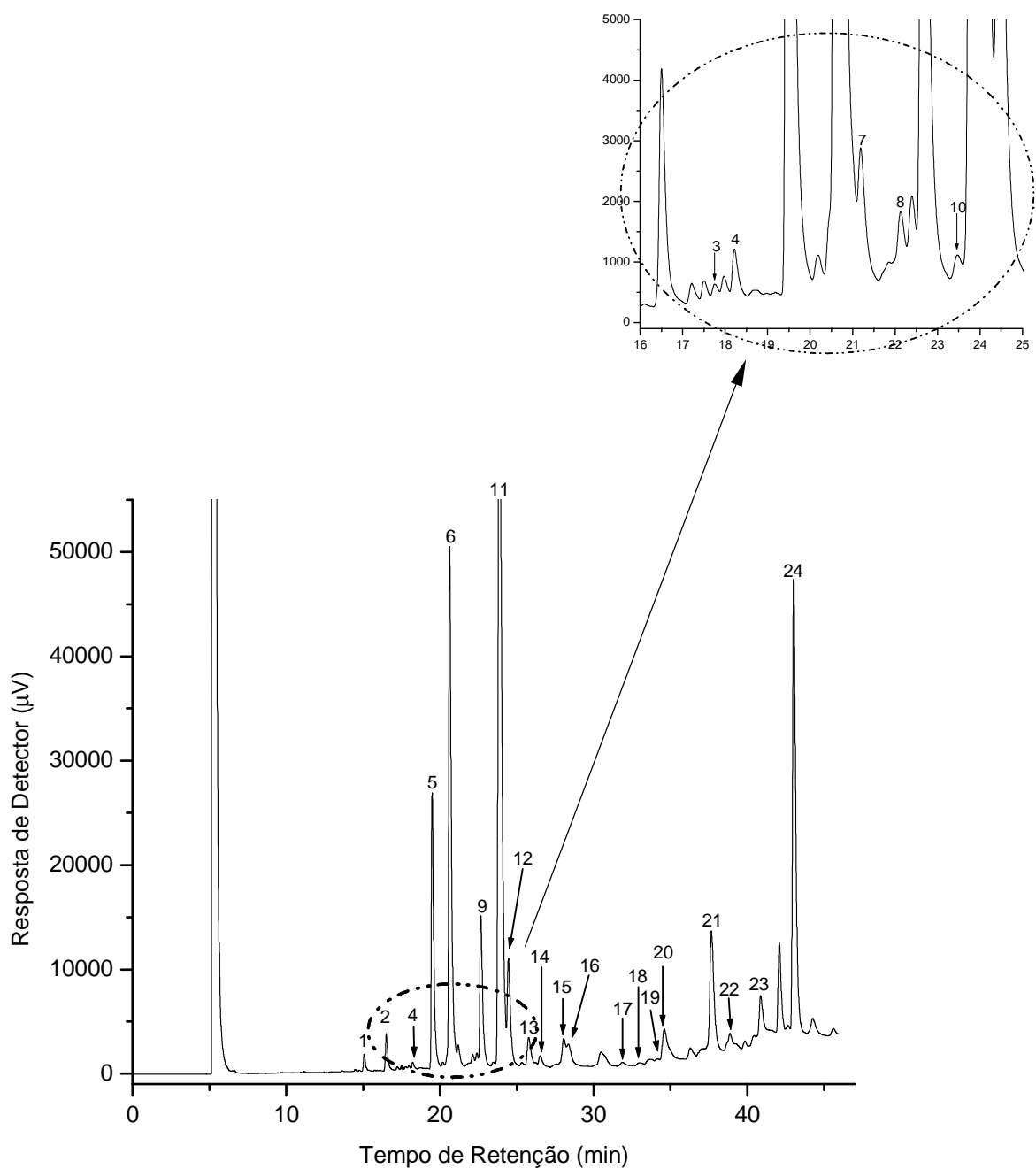


Figura 10: Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos em amostra de filé de pescada branca cozido e padrões internos: 1-13:0, 2-14:0, 3-14:1n-9, 4-15:0, 5-16:0, 6-16:1n-7, 7-17:0, 8-17:1n-7, 9-18:0, 10-18:1n-9t, 11-18:1n-9c, 12-19:0, 13-18:2n-6, 14-20:0, 15-20:1n-9, 16-18:3n-3, 17-22:0, 18-20:3n-6, 19-22:1n-9, 20-20:3n-3, 21-20:5n-3, 22-24:1n-9, 23-22:4n-6, 24-22:6n-3.

5.4.1. Efeito do tratamento térmico

O efeito do tratamento térmico em filé de pescada branca foi avaliado em base úmida, tendo em vista um melhor entendimento da questão nutricional e em base seca para verificar se ocorreram alterações nos teores de AG.

5.4.1.1. Teores de ácidos graxos em base úmida

A composição dos AG, em base úmida (BU), do filé de pescada branca cru e submetido a cozimento em água fervente está apresentada na Tabela 8.

Os resultados em BU demonstram que as concentrações de AGS e AGMI foram similares nas amostras cruas e cozidas e os teores de AGPI sofreram acréscimo nas amostras cozidas. Este resultado é diferente do encontrado nos cálculos realizados em base seca (BS) (Tabela 9), quando se observa uma diminuição na concentração em todas as classes de AG das amostras cozidas.

A relação AGPI n-3/n-6 é conhecida por sua importância dietética, pois representa um fator determinante no equilíbrio da síntese de eicosanoides (SIMOPOULOS 2002, 2008; STEFFENS, 1997). No presente estudo, esta relação ficou próxima de 10, em acordo com as médias estabelecidas por Steffens (1997). De acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), a relação diária AGPI n-3/n-6 na dieta humana deve ser próxima de 1:5 (FAO, 1994). Os valores encontrados neste estudo estão evidentemente acima dos recomendados, porém deve-se levar em consideração que a maioria dos demais alimentos possui uma relação das famílias n-3/n-6 consideravelmente inferior à indicada.

Embora exista um grande número de dados referentes aos teores de AGE da família n-3 em carne de peixe crua, é importante que haja informações sobre as quantidades dos mesmos após o processamento térmico, para que se tenha conhecimento sobre as reais concentrações de EPA e DHA ingeridos na dieta.

Tabela 8: Composição de ácidos graxos em filé de pescada branca cru e submetido a tratamento térmico

AG (mg/100 g),base úmida	Abreviação numérica	CRU	COZIDO
ac. mirístico	14:0	33,8±0,7	47,9±5,9
ac. pentadecílico	15:0	1,9±0,1	3,0±0,4
ac. palmítico	16:0	143,2±0,2	131,3±5,3
ac. margárico	17:0	9,8±0,5	14,4±3,5
ac. esteárico	18:0	82,4±1,0	71,5±0,6
ac. araquídico	20:0	10,5±0,2	14,2±2,5
ac. behênico	22:0	5,1±0,3	6,5±1,1
Σ AGS		286,7±3,8	288,9±8,8
ac. fisetérico	14:1n-9	1,3±0,0	2,4±0,2
ac. palmitoleico	16:1n-7	295,6±0,7	290,9±12,1
ac. 10-heptadecenoico	17:1n-7	5,1±0,2	6,5±0,6
ac. elaídico	18:1n-9 <i>t</i>	3,5±0,0	4,5±0,5
ac. oleico	18:1n-9 <i>c</i>	599,5±3,5	585,4±14,0
ac. gondoico	20:1n-9	35,4±0,4	42,5±4,3
ac. erúcico	22:1n-9	1,8±0,3	2,0±0,0
ac. nervônico	24:1n-9	14,8±0,5	18,0±1,9
Σ AGMI		957,0±3,9	952,3±18,5
ac. linoleico AL	18:2n-6	30,2±1,1	40,1±4,4
ac. α-linolênico ALA	18:3n-3	32,0±1,6	44,7±4,5
ac. di-homo-gama-linolênico	20:3n-6	3,3±0,0	3,7±0,4
ac. di-homo-alfa-linolênico	20:3n-3	35,3±0,4	92,4±15,1
ac. eicosapentaenoico - EPA	20:5n-3	99,0±2,1	95,9±0,1
ac. adrênico	22:4n-6	8,6±0,2	9,6±0,5
ac. docosaexaenoico - DHA	22:6n-3	275,1±3,1	278,8±2,3
Σ AGPI		483,6±7,2	565,3±22,4
Σ n-6		42,1±0,9	53,5±5,3
Σ n-3		441,4±6,4	511,8±17,2
AGPI/AGS		1,7±0,0	1,9±0,0
AGPI n-3/n-6		10,5±0,1	9,6±0,6

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

A soma das concentrações de EPA e DHA nos filés de pescada branca cozidos foi de aproximadamente 370 mg/100 g. Portanto, para que se obtenham os 500 mg

diários recomendados de EPA e DHA é necessário o consumo de uma porção de 140 g de filé de pescada branca cozida.

Uma dieta saudável deve possuir uma relação AGPI/AGS próxima de 0,54 (HEA, 1996). As amostras analisadas no presente estudo apresentaram valores muito mais elevados que esta recomendação, sendo, portanto uma boa fonte de AGPI.

5.4.1.2. Teores dos ácidos graxos em base seca

A composição dos ácidos graxos, determinada nas amostras crua (P) e submetidas a tratamento térmico (P, C, U, UC), em base seca (BS) está apresentada nas Tabelas 9 e 10.

Os AGMI foram os predominantes em carne de pescada branca, sendo que o ácido 18:1n-9c foi o que teve a maior concentração, seguido de 16:1n-7. Dentre os AGPI, os da família n-3 foram os que apresentaram os maiores teores, o DHA foi o AG majoritário, seguido do EPA. Os AGS encontrados em maiores quantidades foram os ácidos 16:0, 18:0 e 14:0 (Tabela 9). Proporções semelhantes de AG em pescadas foram relatadas por Pérez-Villarreal e Howgate (1991), Méndez e González (1997) e Saldanha e Bragagnolo (2007, 2008).

O ácido 18:1n-9t foi o único ácido graxo *trans* encontrado nas amostras de filé de pescada branca. Embora seja um ácido graxo encontrado, principalmente, em produtos industrializados que contenham gorduras hidrogenadas, pode ser encontrado em músculo de peixe em função de sua alimentação. A presença de AG *trans* em pescada foi reportada por Saldanha e Bragagnolo (2008).

O cozimento em água fervente resultou na diminuição dos AGS em todas as amostras, sendo que os ácidos 16:0 e 18:0 foram os mais afetados (Tabela 10). O método de aquecimento empregado determina uma perda seletiva de lipídio, portanto, diferentes AG sofrem alterações distintas (CASTRILLÓN; NAVARRO; ALVÁREZ-PONTES, 1997). Entretanto, não ocorreram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. Resultados semelhantes foram reportados para salmão cozido em água

fervente (YAGIZ et al., 2009), sardinhas grelhadas (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008) e salmão, arenque e sardinha fritos (CANDELA; ASTIASARAN; BELLO, 1998). Embora as reduções de AGS sejam menos frequentes, elas podem ocorrer durante o processamento térmico (CASTRILLÓN; NAVARRO; ALVÁREZ-PONTES, 1997).

Tabela 9: Composição de ácidos graxos (mg/100 g amostra, base seca) em filé de pescada branca cru e submetido a tratamento térmico no tempo zero

AG (mg/100 g, BS)	CRU		COZIDO		
	P	P	C	U	UC
14:0	170,8±3,5 ^a	201,1±25,0 ^a	154,8±7,0 ^a	147,9±30,2 ^a	207,4±11,2 ^a
15:0	9,8±0,0 ^{a,b}	12,4±1,5 ^{a,b}	9,1±0,5 ^b	9,2±8 ^{a,b}	12,7±0,7 ^a
16:0	724,2±1,0 ^a	550,7±22,1 ^{b,c}	577,5±8,1 ^b	500,9±15,5 ^c	524,6±8,0 ^c
17:0	49,3±3,0 ^a	60,4±14,6 ^a	44,3±25,9 ^a	36,9±6,9 ^a	54,3±5,1 ^a
18:0	416,4±4,9 ^a	300,0±2,7 ^{b,c}	330,1±3,1 ^b	281,0±5,5 ^c	289,0±17,1 ^c
20:0	53,0±0,7 ^a	59,6±10,4 ^a	54,1±3,7 ^a	44,2±11,2 ^a	64,8±0,5 ^a
22:0	27,4±1,3 ^a	25,9±4,6 ^a	22,6±0,2 ^a	22,8±3,8 ^a	31,3±2,3 ^a
14:1n-9	6,6±0,0 ^b	10,0±0,9 ^a	6,1±0,3 ^b	6,5±0,3 ^b	10,2±0,2 ^a
16:1n-7	1494,5±4,0 ^a	1220,2±50,6 ^b	1156,6±25,9 ^{b,c}	1057,1±18,4 ^c	1101,1±6,8 ^c
17:1n-7	26,0±1,0 ^b	27,4±2,7 ^b	21,9±0,7 ^{b,c}	18,7±0,7 ^c	34,4±0,4 ^a
18:1n-9t	17,5±0,2 ^b	19,0±2,1 ^{a,b}	19,6±0,4 ^{a,b}	12,5±0,6 ^c	23,1±0,7 ^{a,b}
18:1n-9c	3031,0±17,93 ^a	2455,4±58,8 ^b	2324,3±27,4 ^{b,c}	2117,2±37,8 ^d	2162,4±51,2 ^{c,d}
20:1n-9	178,8±2,1 ^b	178,2±17,9 ^b	146,9±3,3 ^b	218,9±4,1 ^a	218,9±8,0 ^a
22:1n-9	9,1±1,4 ^a	8,6 ± 0,0 ^{a,b}	8,3±0,4 ^{a,b}	5,8±0,6 ^b	7,0±0,5 ^{a,b}
24:1n-9	74,7±3,0 ^b	75,5±7,8 ^b	40,9±1,2 ^c	63,2±3,6 ^b	103,1±5,57 ^a
18:2n-6	152,9±5,3 ^{b,c}	168,4±18,2 ^b	145,8±9,5 ^{b,c}	122,4±6,9 ^c	217,5±0,0 ^a
18:3n-3	161,6±8,1 ^b	187,6±18,9 ^{a,b}	181,7±2,6 ^{a,b}	130,4±9,4 ^b	229,3±31,8 ^a
20:3n-6	16,6±0,2 ^a	15,6±1,7 ^a	14,1±0,6 ^{a,b}	10,9±0,6 ^b	16,6±0,9 ^a
20:3n-3	178,4±2,0 ^{c,d}	127,6±0,0 ^d	283,3±25,0 ^{b,c}	231,7±15,3 ^{b,c}	378,7±20,5 ^a
20:5n-3	500,7±10,0 ^a	402,4±0,5 ^b	373,0±2,4 ^c	346,5±6,7 ^d	340,7±4,2 ^d
22:4n-6	43,5±1,0 ^a	40,2±2,2 ^a	31,7±0,2 ^b	26,7±1,5 ^b	47,2±3,0 ^a
22:6n-3	1391,1±15,8 ^a	1169,5±9,8 ^b	1050,0±0,8 ^c	991,7±15,8 ^d	1022,9±14,8 ^{c,d}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Os AGMI tiveram diminuição significativa nos seus teores e as mesmas foram mais acentuadas nos tratamentos U e UC. Perdas de até 30% foram observadas para o ácido 18:1n-9. Em estudo realizado com pescada grelhada, Saldanha e Bragagnolo (2007) relataram perdas de até 15% nas concentrações de AGMI. O principal mecanismo envolvido na oxidação destes AG é a formação de hidroperóxidos monoinsaturados (SELKE; ROHWEDDER; DUTTON, 1975).

As concentrações dos AGPI foram reduzidas em até 24% após o tratamento térmico. As perdas foram menores no tratamento UC quando comparadas com as amostras controle e as adicionadas de coentro e de urucum. Porém, análises individuais demonstram que EPA e DHA, com reduções respectivas de até 32% e 29%, tiveram o mesmo comportamento frente ao processamento térmico. As maiores reduções ocorreram nos tratamentos urucum e urucum/coentro (Figura 11). Reduções de 20% e 17% nos teores de EPA e DHA, respectivamente, também foram reportadas em filés de pescada grelhados (SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2008).

Os AGPI da família n-3 EPA e DHA possuem papel fundamental no bom funcionamento do organismo humano e na prevenção de doenças (SIMOPOULOS, 2008). Visto que os peixes marinhos são as principais fontes desses compostos e que na maioria das vezes eles são consumidos após processamento térmico, as perdas observadas nas concentrações desses AG não devem ser subestimadas.

O decréscimo nos teores dos AGPI pode estar relacionado com a oxidação lipídica, visto que estes AG são mais susceptíveis a este processo degradativo que os seus análogos saturados. A oxidação lipídica é um processo complexo no qual o oxigênio molecular reage com os AGI através de um mecanismo de reações em cadeia de radicais livres, resultando na formação de hidroperóxidos como produtos primários (JITTREPOTCH; USHIO; OHSHIMA, 2006).

O tipo de tratamento térmico empregado pode determinar a magnitude da redução nas concentrações dos AGI. Estudos reportaram reduções nas concentrações de EPA e DHA em sardinhas grelhadas (SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008), sardinhas e cavalas fritas (CANDELA; ASTIASARAN; BELLO, 1998), salmão

frito (GLADYSHEV et al., 2006), merluza, linguado, arenque e truta fritos (GLADYSHEV et al., 2007; CANDELA; ASTIASARAN; BELLO, 1997), da ordem de 16 a 72% para EPA e de 22 a 73% para DHA. Entretanto quando diferentes espécies de peixes foram grelhadas, assadas em forno convencional e forno de micro-ondas, cozidas em água fervente e a vapor não houve redução significativa nos teores de EPA e DHA (WEBER et al., 2008; CASTRO et al., 2007; GLADYSHEV et al., 2006; 2007).

Tabela 10: Teores de ácidos graxos (mg/100 g, base seca) e relações de importância nutricional em filé de pescada branca cru e submetido a tratamento térmico no tempo zero

AG (mg/100 g, BS)	CRU		COZIDO		
	P	P	C	U	UC
AGS	1449,5±0,7 ^a	1211,7±36,8 ^b	1192,7±24,5 ^b	1184,2±43,9 ^b	1042,9±40,4 ^b
AGMI	4838,3±17,0 ^a	3994,5±77,7 ^b	3724,5±59,0 ^c	3500,0±46,8 ^d	3660,4±30,6 ^{c,d}
AGPI	2445,0±36,6 ^a	2111,4±30,7 ^c	2079,8±38,5 ^c	1854,6±8,2 ^d	2258,9±37,2 ^b
AGI	7285,1±53,7 ^a	6105,9±47,0 ^b	5804,8±97,6 ^c	5259,3±38,6 ^d	5919,3±1,8 ^{b,c}
EPA	500,7±10,0 ^a	402,4±0,5 ^b	373,0±2,4 ^c	346,5±6,7 ^d	340,7±4,2 ^d
DHA	1391,1±15,8 ^a	1169,5±9,8 ^b	1050,0±0,8 ^c	991,7±15,8 ^d	1022,9±14,8 ^{c,d}
n-6	213,1±4,2 ^b	224,3±22,2 ^c	191,7±9,8 ^{b,c}	160,1±5,9 ^c	281,3±3,9 ^a
n-3	2231,9±32,3 ^a	1887,2±8,9 ^b	1888,1±29,2 ^b	1694,5±2,2 ^c	1977,5±1,4 ^b
AGPI n-3/n-6	10,5±0,05 ^a	8,4±0,8 ^{b,c}	9,8±0,35 ^{a,b}	10,6±0,37 ^a	7,0±0,09 ^c
AGPI/AGS	1,7±0,2 ^a	1,7±0,2 ^a	1,7±0,0 ^a	1,7±0,0 ^a	1,8±0,1 ^a

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

AGS - ácidos graxos saturados, AGMI - ácidos graxos monoinsaturados, AGPI - ácidos graxos poli-insaturados, AGI - ácidos graxos insaturados totais, EPA - ácido eicosapentaenoico, DHA - ácido docosaexaenoico, n-6 - poli-insaturados n-6, n-3 - poli-insaturados n-3.

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

O tratamento térmico aplicado às amostras no presente estudo foi do mesmo tipo (fervura em água) e teve níveis de temperatura semelhantes aos utilizados por Gladyshev et al. (2006, 2007). Todavia, o tempo de exposição ao aquecimento foi maior do que no estudo supracitado (30 minutos versus 15 minutos). Como os resultados foram divergentes, visto que os autores relataram não ocorrer perdas significativas de EPA e DHA, o aquecimento mais prolongado talvez possa explicar as diferenças

observadas. Deste modo, percebe-se que o nível de temperatura e o tempo de exposição podem influir nos teores de EPA e DHA.

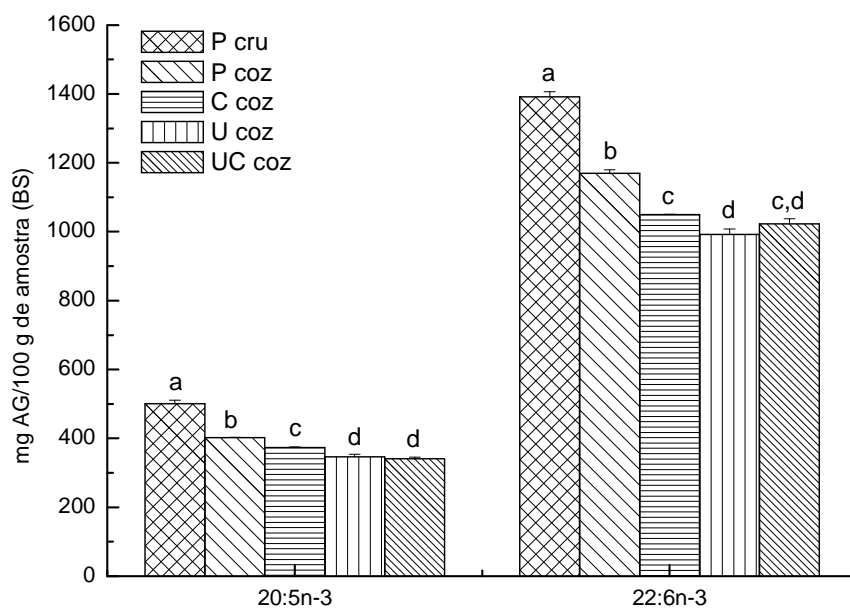


Figura 11: Teores de ácido eicosapentaenoico e ácido docosaexaenoico (mg/100 g em base seca) em filé de pescada branca cru e submetido a processamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Os teores de AGPI n-3 foram muito superiores aos da família n-6, sendo que a relação AGPI n-3/n-6 encontrada para as amostras cruas foi de $10,5 \pm 0,1$. Porém, esta relação foi afetada pelo tratamento térmico nas amostras controle e adicionadas de urucum/coentro. A diminuição da relação AGPI n-3/n-6 foi consequência das maiores perdas ocorridas com os AGPI n-3, visto que foi observado um comportamento no qual as perdas mais importantes ocorreram com os AG que se apresentaram em maiores

concentrações nas amostras cruas. Embora o tratamento térmico tenha resultado em redução da relação AGPI n-3/n-6, o seu valor permaneceu superior às recomendações estabelecidas pelas agências reguladoras de saúde.

Com relação aos AGMI, as amostras controle apresentaram concentrações mais altas que as amostras com adição de antioxidantes, sendo que as amostras U e UC tiveram os menores teores de AGMI. Este fato demonstra que os antioxidantes naturais não apresentaram um efeito protetor durante o tratamento térmico. O comportamento do ácido 18:1n-9c foi exatamente o mesmo encontrado na totalidade dos AGMI.

Os AGPI também não foram protegidos pelos antioxidantes adicionados às amostras. As amostras controle, após a fervura em água, revelaram níveis superiores de EPA e DHA, quando comparadas com as amostras tratadas com antioxidantes. A única exceção ocorreu com o tratamento UC, neste caso os níveis de EPA e DHA continuaram mais baixos e a somatória dos demais AGPI foi responsável pelo aumento da concentração dos AGPI. Em estudo realizado para verificação do efeito da adição de extrato de alecrim em sargo submetido a diferentes processamentos térmicos foi verificado que o uso deste antioxidante teve papel importante na preservação dos AG de todas as amostras, principalmente com relação aos AGPI (OZOGUL; OZYURT; BOGA, 2009).

5.4.2. Efeito da estocagem

O efeito do congelamento nos AG individuais do filé de pescada branca submetido aos diferentes tratamentos está apresentado na Tabela 11.

Os AGS majoritários, 16:0 e 18:0, sofreram reduções ao longo da estocagem e ao final de 120 dias ambos os AG apresentaram teores significativamente maiores nas amostras adicionadas de urucum e urucum/coentro.

Os AGMI 18:1n-9c e 16:1n-7, presentes em maiores quantidades, tiveram seus teores reduzidos durante a estocagem. Entretanto as reduções nas concentrações

foram significativamente menores nas amostras adicionadas de urucum e urucum/coentro.

Os teores das diferentes classes de AG, de EPA e DHA e das relações AGPI n-3/n-6 e AGPI/AGS estão apresentados na Tabela 12.

As concentrações dos AGS das amostras submetidas aos diferentes tratamentos tiveram redução significativa com o decorrer da estocagem, sendo que para as amostras controle e adicionadas de coentro, tiveram início a partir dos primeiros 30 dias. Após 120 dias, os tratamentos com urucum e urucum/coentro foram os que apresentaram os maiores teores destes AG. Embora os AGS sejam menos susceptíveis à oxidação lipídica que os AGI, Castrillón, Navarro e Álvarez-Pontes (1997) relataram a ocorrência da diminuição destes compostos em sardinhas estocadas a -20°C por 4 meses.

Diminuições significativas nos teores de AGMI das amostras controle, urucum e urucum/coentro começaram a ocorrer aos 60 dias de estocagem. Nas amostras coentro as reduções tiveram início aos 30 dias. No final da estocagem as amostras urucum/coentro e urucum apresentaram maiores concentrações de AGMI, quando comparadas com as amostras coentro e controle. Após 90 dias, os teores de AGMI das amostras controle passaram a ser inferiores aos teores das amostras com adição de antioxidantes.

As concentrações de AGPI foram reduzidas significativamente a partir dos 30 dias de armazenamento nas amostras coentro, 60 dias nas amostras urucum e urucum/coentro e 90 dias nas amostras controle. Após 120 dias, as amostras urucum/coentro e urucum apresentaram teores de AGPI significativamente maiores que as amostras coentro e controle, sendo que as amostras adicionadas de coentro tiveram concentrações superiores às das amostras controle.

Tabela 11: Composição de ácidos graxos (mg/100 g amostra, base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	0				30			
AG (mg/100 g, BS)	P	C	U	UC	P	C	U	UC
14:0	201,1±24,9 ^{a,b}	154,8±6,9 ^{c,d,e,f,g,h}	169,2±0,0 ^{a,b,c,d,e}	207,3±11,2 ^a	143,8±8,6 ^{d,e,f,g,h}	162,0±0,0 ^{b,c,d,e,f}	192,2±25,9 ^{a,b,c}	173,7±22,1 ^{a,b,c,d}
15:0	12,4±1,5 ^b	9,1±0,5 ^{c,d,e,f}	9,2±0,8 ^{c,d,e,f}	12,7±0,7 ^{a,b}	9,4±0,1 ^{c,d,e}	10,4±27,7 ^{b,c,d}	11,0±1,2 ^{b,c}	10,7±1,6 ^{b,c}
16:0	550,7±22,1 ^{a,b}	577,5±8,2 ^a	500,9±15,6 ^{c,d,e}	524,6±8,0 ^{b,c}	532,0±2,7 ^{b,c}	521,2± 1,9 ^{b,c}	494,2±8,4 ^{d,e,f}	559,1±0,6 ^{a,b}
17:0	60,4±14,6 ^a	44,3±2,2 ^{a,b,c}	36,9±6,9 ^a	54,3±5,1 ^a	33,2±2,4 ^{c,d}	56,6±0,0 ^a	32,7±0,0 ^a	31,5±0,0 ^b
18:0	300,0±2,7 ^b	330,1±3,1 ^a	281,0±5,5 ^{b,c,d,e}	289,0±17,2 ^{b,c}	282,8±6,3 ^{b,c,d}	282,7±3,6 ^{b,c,d}	276,6±1,6 ^{b,c,d,e}	298,5±2,2 ^b
20:0	59,6±10,4 ^{a,b}	54,1±3,5 ^{a,b,c,d}	44,2±11,3 ^{b,c,d,e}	64,8±0,5 ^a	38,4±1,8 ^{c,d,e}	40,6±4,2 ^{c,d,e}	66,8±0,0 ^a	54,4±6,7 ^{a,b,c,d}
22:0	27,4±4,6 ^{a,b,c}	22,6±0,2 ^{b,c,d,e}	22,8±3,8 ^{b,c,d,e}	31,3±2,3 ^{a,b}	17,9±1,2 ^{d,e,f}	14,3±0,3 ^{e,f}	27,3±3,9 ^{a,b,c,d,d}	20,8±2,6 ^{c,d,e,f}
14:1n-9	10,0±0,9 ^{a,b}	6,1±0,3 ^{c,d,e,f}	6,5±0,4 ^{c,d,e}	10,2±0,2 ^{a,b}	6,4±0,9 ^{c,d,e}	7,4±0,6 ^{b,c}	7,1±0,1 ^{c,d}	6,5±0,0 ^{c,d,e}
16:1n-7	1220,2±50,6 ^{a,b}	1156,6±25,9 ^{b,c}	1057,1±18,5 ^{d,e,f}	1101,1±6,8 ^{c,d}	1191,4±27,5 ^{a,b}	1066,2±2,5 ^{d,e,f}	1026,8±9,5 ^{e,f,g}	1235,8±0,0 ^a
17:1n-7	27,4±2,7 ^{a,b,c,d}	21,9±0,7 ^{c,d,e,f}	18,7±0,8 ^{d,e,f,g}	34,4±0,4 ^a	24,5±1,0 ^{b,c,d,e}	20,1±2,9 ^{c,d,e,f,g}	29,6±4,7 ^{a,b,c}	24,6±3,6 ^{a,b,c,d,e}
18:1n-9t	19,0±2,2 ^{a,b,c,d}	19,6±0,4 ^{a,b,c}	12,5±0,6 ^{d,e,f,g}	23,1±0,7 ^a	17,0±1,0 ^{a,b,c,d,e,f}	15,2±2,5 ^{b,c,d,e,f,g}	21,3±3,5 ^{a,b}	17,6±2,6 ^{a,b,c,d,e}
18:1n-9c	2455,4±58,8 ^a	2324,3±27,5 ^{a,b}	2117,2±37,8 ^{c,d,e}	2162,4±51,2 ^{c,d}	2378,1±40,8 ^a	2121,7±11,6 ^{c,d,e}	2101,1±12,4 ^{c,d,e}	2431,4±80,6 ^a
20:1n-9	178,2±17,9 ^{a,b,c}	146,9±3,4 ^{c,d,e,f}	123,5±4,2 ^{d,e,f,g,h}	218,9±8,0 ^a	150,9±2,8 ^{c,d,e}	140,4±16,5 ^{c,d,e,f,g}	209,1±27,8 ^a	159,2±20,1 ^{b,c,d}
22:1n-9	8,6±0,1 ^a	8,3±0,4 ^a	5,8±0,6 ^{b,c,d}	7±0,6 ^{a,b,c}	5,4±0,1 ^{c,d,e}	4,6±0,7 ^{d,e,f}	8,2±0,0 ^a	7,02±0,4 ^{a,b,c}
24:1n-9	75,5±7,8 ^{b,c,d}	40,9±1,2 ^{e,f,g}	63,2±3,7 ^{c,d,e}	103,1±5,6 ^a	54,9±6,0 ^{d,e,f}	103,6±4,1 ^a	99,4±13,9 ^{a,b}	82,3±15,5 ^{a,b,c}
18:2n-6	168,4±18,3 ^{b,c,d}	145,8±9,5 ^{d,e,f}	122,4±6,9 ^{f,g,h,i}	217,5±0,1 ^a	153,5±3,3 ^{c,d,e}	150,4±0,0 ^{d,e}	183,6±0,0 ^b	177,4±0,0 ^{b,c}
18:3n-3	187,6±18,9 ^{b,c}	181,7±2,6 ^{b,c}	130,4±9,5 ^{d,e}	190,2±31,9 ^{b,c}	154,3±3,4 ^{b,c,d,e}	157,3±23,8 ^{b,c,d}	192,3±0,0 ^b	172,4±6,1 ^{b,c,d}
20:3n-6	15,6±1,7 ^{a,b}	14,1±0,6 ^{a,b,c,d}	10,9±0,6 ^{d,e,f,g}	16,6±0,9 ^a	11,4±0,2 ^{c,d,e,f}	11,2±0,1 ^{c,d,e,f}	17,2±2,1 ^a	14,3±1,6 ^{a,b,c}
20:3n-3	127,6±0,0 ^{f,g,h}	283,3±25,0 ^b	231,7±15,3 ^{c,d}	378,7±20,6 ^a	246,5±26,9 ^{b,c}	249,0±0,0 ^{b,c}	127,2±1,6 ^{f,g,h}	133,3±5,2 ^{f,g}
20:5n-3	402,4±0,5 ^a	373,0±2,4 ^b	340,7±6,7 ^{c,d}	346,5±4,3 ^c	404,1±1,0 ^a	350,8±4,4 ^c	342,3±4,7 ^{c,d}	409,1±1,1 ^a
22:4n-6	40,2±2,2 ^{b,c,d}	31,7±0,3 ^{b,c,d,e}	26,7±1,6 ^{d,e}	47,2±3,1 ^{a,b}	33,3±3,1 ^{b,c,d,e}	25,6±3,5 ^{d,e}	44,9±2,5 ^{a,b,c}	29,6±1,9 ^{c,d,e}
22:6n-3	1169,5±9,8 ^a	1050,0±0,8 ^b	991,7±15,8 ^{c,d}	1022,9±14,9 ^{b,c}	1205,3±13,3 ^a	998,0±14,9 ^{c,d}	996,6±10,5 ^{c,d}	1218,5±0,8 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05). Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Continuação Tabela 11: Composição de ácidos graxos (mg/100 g amostra, base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	60				90			
AG (mg/100 g, BS)	P	C	U	UC	P	C	U	UC
14:0	190,9±0,0 ^{a,b,c}	143,1±7,4 ^{d,e,f,g,h}	107,1±2,9 ^{h,i}	135,1±2,2 ^{d,e,f,g,h,i}	97,0±2,5 ⁱ	124,2±4,3 ^{f,g,h,i}	115,4±10,4 ^{g,h,i}	105,0±0,9 ^{h,i}
15:0	15,1±3,7 ^a	8,1±0,2 ^{d,e,f,g}	6,8±0,1 ^{f,g,h}	9,0±1,9 ^{c,d,e,f}	5,5±0,2 ^h	8,9±0,6 ^{c,d,e,f}	6,9±0,8 ^{e,f,g,h}	7,2±0,0 ^{e,f,g,h}
16:0	520,2±7,3 ^{b,c}	501,0±11,7 ^{c,d,e}	435,7±3,5 ^{g,h}	468,3±0,2 ^{d,e,f,g}	352,1±1,1 ^j	503,0±18,0 ^{c,d}	458,1±28,8 ^{e,f,g}	452,1±4,4 ^{f,g}
17:0	50,1±0,0 ^{a,b}	35,8±1,2 ^{b,c,d}	28,8±0,7 ^a	25,9±1,2 ^b	28,1±1,2 ^{c,d}	29,5±1,0 ^{c,d}	29,3±1,8 ^a	26,7±0,9 ^b
18:0	288,0±3,3 ^{b,c}	288,2±16,0 ^{b,c}	243,1±0,5 ^{f,g}	251,9±0,2 ^{e,f}	195,4±1,9 ⁱ	272,9±11,4 ^{b,c,d,e,f}	254,6±15,4 ^{d,e,f,g}	246,0±3,4 ^{f,g}
20:0	55,4±0,0 ^{a,b,c}	41,2±0,9 ^{c,d,e}	32,6±1,1 ^e	41,7±1,0 ^{c,d,e}	27,7±0,4 ^e	27,2±0,1 ^e	34,8±2,4 ^e	33,5±0,2 ^e
22:0	16,9±2,9 ^{e,f}	13,4±1,1 ^{e,f}	15,7±0,5 ^{e,f}	16,8±4,8 ^{e,f}	12,3±0,1 ^f	36,6±3,3 ^a	16,0±2,3 ^{e,f}	15,9±2,2 ^{e,f}
14:1n-9	10,4±2,7 ^a	5,2±0,1 ^{c,d,e,f}	4,3±0,1 ^{d,e,f}	6,3±2,2 ^{c,d,e,f}	3,4±0,1 ^f	4,5±0,3 ^{c,d,e,f}	4,1±0,4 ^{e,f}	4,8±0,1 ^{c,d,e,f}
16:1n-7	1083,7±4,8 ^{c,d,e}	998,9±20,1 ^{f,g}	912,6±9,2 ^{h,i}	1011,8±0,5 ^{e,f,g}	685,7±2,1 ^k	953,2±34,1 ^{f,g}	896,4±3,8 ⁱ	999,4±17,6 ^{g,h,i}
17:1n-7	33,6±7,8 ^{a,b}	18,3±0,4 ^{d,e,f,g}	15,2±0,6 ^{e,f,g}	20,7±2,4 ^{c,d,e,f,g}	13,2±0,1 ^{f,g}	15,2±0,3 ^{e,f,g}	15,1±0,1 ^{e,f,g}	15,8±0,1 ^{e,f,g}
18:1n-9t	23,0±4,6 ^a	13,6±0,5 ^{c,d,e,f,g}	10,6±0,3 ^{f,g}	14,1±2,7 ^{c,d,e,f,g}	11,0±0,8 ^{e,f,g}	12,0±0,2 ^{e,f,g}	11,4±0,2 ^{e,f,g}	11,2±0,1 ^{e,f,g}
18:1n-9c	2231,3±28,0 ^{b,c}	2063,1±19,8 ^{d,e}	1863,9±9,2 ^h	2055,2±0,5 ^{d,e,f}	1414,3±11,5 ^j	2055,7±68,4 ^{d,e,f}	1840,5±31,5 ^h	1888,2±28,1 ^{g,h}
20:1n-9	197,5±0,0 ^{a,b}	132,3±10,6 ^{d,e,f,g,h}	103,2±7,3 ^{g,h}	137,5±0,6 ^{c,d,e,f,g}	90,2±6,8 ^h	113,1±3,3 ^{e,f,g,h}	107,6±5,8 ^{g,h}	99,3±4,5 ^{g,h}
22:1n-9	5,2±0,2 ^{c,d,e}	7,5±1,1 ^{a,b}	4,8±0,3 ^{d,e,f}	5,2±1,0 ^{c,d,e}	5,1±0,9 ^{c,d,e}	3,0±0,0 ^f	4,5±0,0 ^{d,e,f}	3,9±0,6 ^{d,e,f}
24:1n-9	79,0±0,0 ^{b,c}	38,2±1,5 ^{f,g}	47,8±0,0 ^{e,f,g}	53,6±11,9 ^{d,e,f}	40,1±5,9 ^{e,f,g}	37,8±2,7 ^{f,g}	47,31±0,5 ^{e,f,g}	42,2±1,4 ^{e,f,g}
18:2n-6	118,0±0,0 ^{h,i,j}	141,9±2,8 ^{e,f,g}	112,3±3,0 ^{i,j}	145,4±2,4 ^{d,e,f}	104,7±4,8 ^{i,j}	120,1±4,0 ^{g,h,i}	114,41±1,4 ^{i,j}	111,4±3,5 ^{i,j}
18:3n-3	292,7±20,2 ^a	158,4±12,9 ^{b,c,d}	127,8±2,8 ^{d,e}	171,4±0,3 ^{b,c,d}	106,8±1,3 ^e	130,5±4,9 ^{d,e}	131,71±5,94 ^{d,e}	128,1±8,1 ^{d,e}
20:3n-6	15,5±5,1 ^{a,b}	12,9±0,1 ^{b,c,d,e}	9,2±0,2 ^{f,g}	10,0±0,6 ^{e,f,g}	8,5±0,1 ^{f,g}	10,2±0,2 ^{e,f,g}	9,34±0,71 ^{f,g}	8,2±0,2 ^{f,g}
20:3n-3	131,4±5,2 ^{f,g}	114,6±1,5 ^{g,h,i}	104,4±0,5 ^{g,h,i}	109,5±1,8 ^{g,h,i}	79,4±0,2 ⁱ	171,6±16,3 ^{e,f}	109,79±6,88 ^{g,h,i}	186,6±8,2 ^{d,e}
20:5n-3	352,4±2,5 ^c	328,8±4,4 ^{d,e}	295,2±0,1 ^{g,h}	330,1±0,3 ^{d,e}	221,5±4,7 ^j	309,3±10,2 ^{f,g}	287,1±2,73 ^h	305,4±2,1 ^{f,g}
22:4n-6	60,9±15,8 ^a	35,2±1,6 ^{b,c,d,e}	26,7±0,9 ^{d,e}	33,3±0,6 ^{b,c,d,e}	23,2±0,5 ^e	21,7±0,4 ^e	25,78±0,43 ^{d,e}	26,1±0,5 ^{d,e}
22:6n-3	1052,4±0,0 ^b	936,0±5,4 ^{e,f}	854,3±7,8 ^{h,i}	997,3±0,1 ^{c,d}	608,4±10,3 ^k	896,5±25,8 ^{f,g,h}	838,44±25,28 ⁱ	915,1±16,0 ^{e,f,g}

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05). Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Continuação Tabela 11: Composição de ácidos graxos (mg/100 g amostra, base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	120			
AG (mg/100 g, BS)	P	C	U	UC
14:0	114,7±10,3 ^{g,h,i}	95,9±2,0 ⁱ	125,9±6,1 ^{e,f,g,h,i}	113,4±1,1 ^{g,h,i}
15:0	6,4±0,8 ^{g,h}	5,5±0,0 ^h	7,2±0,2 ^{e,f,g,h}	7,0±0,2 ^{e,f,g,h}
16:0	363,4±2,9 ^{i,j}	406,3±5,9 ^{h,i}	473,6±1,3 ^{d,e,f,g}	454,2±3,3 ^{f,g}
17:0	25±0,2 ^d	24,3±0,4 ^d	32,2±4,7 ^a	29,7±1,6 ^b
18:0	210,7±1,7 ^{h,i}	230,0±5,7 ^{g,h}	265,0±0,8 ^{c,d,e,f}	245,7±1,9 ^{f,g}
20:0	33,9±5,6 ^e	29,5±0,2 ^e	37,8±0,1 ^{c,d,e}	38,3±1,2 ^{d,e}
22:0	15,5±1,1 ^{e,f}	13,4±0,1 ^{e,f}	27,0±3,5 ^{b,c,d}	18,2±0,1 ^{c,d,e,f}
14:1n-9	3,7±0,3 ^{e,f}	3,7±0,0 ^{e,f}	5,1±0,1 ^{c,d,e,f}	5,0±0,05 ^{c,d,e,f}
16:1n-7	694,6±2,3 ^k	798,3±0,9 ^j	922,4±10,9 ^{h,i}	976,8±1,2 ^{g,h}
17:1n-7	12±1,0 ^g	12,3±0,3 ^{f,g}	17,4±0,1 ^{e,f,g}	17,3±0,1 ^{e,f,g}
18:1n-9t	9,8±0,8 ^g	9,6±0,2 ^g	15,6±0,7 ^{b,c,d,e,f,g}	13,2±0,1 ^{c,d,e,f,g}
18:1n-9c	1446,9±3,6 ^j	1616,2±17,3 ⁱ	1915,6±15,8 ^{f,g,h}	2007,8±13,0 ^{e,f,g}
20:1n-9	91,1±6,1 ^h	94,7±1,2 ^h	114,3±0,2 ^{f,g,h}	124,2±1,2 ^{e,f,g,h}
22:1n-9	4,6±0,2 ^{d,e,f}	3,5±0,2 ^{f,g}	4,56±0,95 ^{d,e,f}	4,6±0,2 ^{d,e,f}
24:1n-9	26,2±0,1 ^g	28,1±0,0 ^g	40,1±4,5 ^{e,f,g}	47,3±0,4 ^{e,f,g}
18:2n-6	112,7±11,2 ^{i,j}	94,5±2,6 ^j	138,36±1,42 ^{e,f,g,h}	119,9±0,1 ^{g,h,i}
18:3n-3	130,6±11,1 ^{d,e}	107,1±23,0 ^e	142,93±0,69 ^{c,d,e}	144,5±0,6 ^{b,c,d,e}
20:3n-6	9,3±08 ^{f,g}	7,7±0,5 ^g	10,86±0,02 ^{d,e,f,g}	8,1±0,4 ^{f,g}
20:3n-3	83,5±3,0 ^{h,i}	160,2±5,8 ^{e,f}	105,04±0,3 ^{g,h,i}	99,9±0,9 ^{g,h,i}
20:5n-3	227,8±0,5 ^j	255,5±1,8 ⁱ	299,5±1,19 ^{f,g,h}	315,1±4,7 ^{e,f}
22:4n-6	24,2±2,4 ^e	23,3±0,8 ^e	30,37±0,82 ^{c,d,e}	27,5±0,6 ^{d,e}
22:6n-3	655,7±1,4 ^k	737,9±2,0 ^j	881,25±4,03 ^{g,h,i}	954,1±10,3 ^{d,e}

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p <0,05).

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Tabela 12: Teores de ácidos graxos (mg/100g, base seca) e relações de importância nutricional em filé de pescada branca durante armazenamento a -18 °C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	0				30			
AG	P	C	U	UC	P	C	U	UC
AGS	1211,7±36,8 ^a	1192,7±24,5 ^{a,b}	1064,2±44,0 ^{d,e,f}	1184,1±40,4 ^{a,b,c}	1057,6±6,6 ^{d,e,f}	1087,8±7,2 ^{c,d,e}	1100,9±20,9 ^{b,c,d,e}	1148,8±30,5 ^{a,b,c,d}
AGMI	3994,4±77,8 ^a	3724,5±59,0 ^b	3404,6±46,8 ^{d,e}	3660,4±30,7 ^{b,c}	3828,7±70,3 ^{a,b}	3479,3±28,2 ^{c,d}	3502,7±71,7 ^{c,d}	3964,5±93,1 ^{a,b}
AGPI	2111,4±30,8 ^{b,c}	2080,2±38,5 ^{b,c}	1854,6±8,2 ^{f,g}	2219,7±37,3 ^a	2208,5±44,6 ^a	1953,1±22,8 ^{d,e}	1904,1±18,2 ^{e,f}	2154,6±3,1 ^{a,b}
AGI	6105,9±47,0 ^{a,b}	5804,7±97,6 ^{c,d}	5259,2±38,6 ^{e,f}	5880,1±6,6 ^{b,c,d}	6037,2±114,9 ^{a,b,c}	5432,4±51,0 ^e	5406,9±90,0 ^e	6119,1±94,9 ^a
EPA	402,4±0,5 ^a	373,0±2,4 ^b	340,7±6,7 ^{c,d}	346,5±4,3 ^c	404,1±1,0 ^a	350,8±4,4 ^c	342,3±4,7 ^{c,d}	409,1±1,1 ^a
DHA	1169,5±9,8 ^a	1050,0±0,8 ^b	991,7±15,8 ^{c,d}	1022,9±14,9 ^{b,c}	1205,3±13,3 ^a	998,0±14,9 ^{c,d}	996,6±10,5 ^{c,d}	1218,5±0,8 ^a
n-6	224,3±22,2 ^{b,c}	191,7±9,8 ^{d,e}	160,1±5,9 ^{f,g,h}	281,3±3,9 ^a	198,2±0,0 ^{c,d,e}	187,2±3,4 ^{e,f}	245,7±4,6 ^b	221,3±0,3 ^{b,c,d}
n-3	1913,5±8,9 ^{b,c}	1888,1±29,3 ^{c,d}	1694,5±2,3 ^{e,f}	1960,9±1,4 ^{a,b}	2009,6±43,6 ^a	1755,3±4,5 ^e	1658,4±13,6 ^{f,g}	1933,3±2,8 ^{b,c}
n-3/n-6	8,5±0,9 ^{d,e,f,g,h}	9,8±0,3 ^{a,b,c,d}	10,5±0,4 ^a	6,9±0,1 ^{i,j}	10,1±0,2 ^{a,b}	9,3±0,1 ^{a,b,c,d,e,f}	6,7±0,1 ^j	8,7±0,0 ^{c,d,e,f,g,h}
AGPI/AGS	1,74±0,02 ^{b,c,d,e}	1,74±0,0 ^{b,c,d,e}	1,74±0,07 ^{b,c,d,e}	1,9±0,09 ^{b,c}	2,08±0,05 ^a	1,79±0,01 ^{b,c,d,e}	1,72±0,01 ^{b,c,d,e}	1,9±0,05 ^{b,c}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

AGS - ácidos graxos saturados, AGMI - ácidos graxos monoinsaturados, AGPI - ácidos graxos poli-insaturados, AGI - ácidos graxos insaturados totais, EPA - ácido eicosapentaenoico, DHA - ácido docosaenoico, n-6 - poli-insaturados n-6, n-3 - poli-insaturados n-3.

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Continuação Tabela 12: Teores de ácidos graxos (mg/100g, base seca) e relações de importância nutricional em filé de pescada branca durante armazenamento a -18 °C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	60				90			
AG	P	C	U	UC	P	C	U	UC
AGS	1136,7±4,1 ^{a,b,c,d}	1030,8±38,4 ^{e,f,g}	869,9±11,2 ^{i,j,k}	948,8±0,5 ^{g,h,i}	718,2±1,4 ^l	1002,2±0,6 ^{e,f,g,h}	915,1±61,4 ^{h,i}	886,6±5,8 ^{i,j}
AGMI	3663,7±17,4 ^{b,c}	3277,1±47,3 ^{e,f}	2962,4±26,9 ⁱ	3304,3±0,5 ^{d,e,f}	2263,1±10,7 ^k	3240,8±102,9 ^{e,f,g}	2926,9±54,8 ⁱ	3018,7±4,2 ^{h,i}
AGPI	2023,3±38,8 ^{c,d}	1727,9±25,6 ^{h,i}	1530,1±9,1 ^k	1796,9±0,0 ^{g,h}	1152,6±12,4 ^m	1660,0±0,4 ^{i,j}	1516,6±16,3 ^k	1681,0±21,2 ^{i,j}
AGI	5687,1±21,4 ^d	5004,0±73,2 ^{g,h}	4492,5±36,0 ^{k,l}	5101,2±23,8 ^{f,g}	3415,7±13,1 ⁿ	4900,8±103,4 ^{g,h,i}	4443,6±55,5 ^l	4699,7±17,0 ^{i,j,k}
EPA	352,4±2,5 ^c	328,8±4,4 ^{d,e}	295,2±0,1 ^{g,h}	330,1±0,3 ^{d,e}	221,5±4,7 ⁱ	309,3±10,2 ^{f,g}	287,1±2,7 ^h	305,4±2,1 ^{f,g}
DHA	1052,4±0,0 ^b	936,0±5,4 ^{e,f}	854,3±7,8 ^{h,i}	997,3±0,1 ^{c,d}	608,4±10,3 ^k	896,5±25,8 ^{f,g,h}	838,44±25,3 ⁱ	915,1±16,0 ^{e,f,g}
n-6	194,4±15,9 ^{c,d,e}	190,0±4,5 ^{e,f}	148,3±3,6 ^{h,i}	188,6±1,9 ^{e,f}	136,4±4,2 ^{h,i}	152,0±3,7 ^{g,h,i}	149,54±1,1 ^{h,i}	145,7±3,2 ^{h,i}
n-3	1828,9±23,0 ^d	1537,8±21,1 ^h	1381,7±5,5 ⁱ	1608,3±0,2 ^g	1016,0±16,5 ^l	1508,0±4,1 ^h	1367,05±15,2 ⁱ	1535,3±18,1 ^h
n-3/n-6	9,4±0,6 ^{a,b,c,d,e}	8,0±0,1 ^{f,g,h,i}	9,3±0,2 ^{a,b,c,d,e,f}	8,5±0,2 ^{e,f,g,h}	7,4±0,3 ^{h,i,j}	9,9±0,3 ^{a,b,c}	9,1±0,03 ^{b,c,d,e,f,g}	10,5±0,1 ^a
AGPI/AGS	1,77±0,04 ^{b,c,d,e}	1,67±0,03 ^{c,d,e}	1,78±0,03 ^{b,c,d,e}	1,9±0,55 ^{a,b}	1,60±0,01 ^e	1,65±0,0 ^{d,e}	1,66±0,12 ^{d,e}	1,9±0,03 ^{a,b}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

AGS - ácidos graxos saturados, AGMI - ácidos graxos monoinsaturados, AGPI - ácidos graxos poli-insaturados, AGI - ácidos graxos insaturados totais, EPA - ácido eicosapentaenoico, DHA - ácido docosaenoico, n-6 - poli-insaturados n-6, n-3 - poli-insaturados n-3.

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Continuação Tabela 12: Teores de ácidos graxos (mg/100g, base seca) e relações de importância nutricional em filé de pescada branca durante armazenamento a -18 °C por 120 dias e subsequente tratamento térmico

Dia	120			
AG	P	C	U	UC
AGS	768,1±12,9 ^{k,l}	804,9±13,9 ^{j,k,l}	969,2±0,3 ^{f,g,h,i}	906,0±3,6 ^{h,i,j}
AGMI	2288,8±5,2 ^k	2566,4±14,4 ^j	3044,9±27,9 ^{g,h,i}	3186,2±0,9 ^{f,g,h}
AGPI	1243,8±17,1 ^m	1386,3±8,9 ^j	1608,33±7,08 ^{j,k}	1669,2±13,9 ^{i,j}
AGI	3532,7±11,9 ⁿ	3952,8±5,5 ^m	4653,3±24,6 ^{i,k,l}	4855,4±23,8 ^{h,i,j}
EPA	227,8±0,5 ^j	255,5±1,8 ⁱ	299,5±1,2 ^{f,g,h}	315,1±4,7 ^{e,f}
DHA	655,7±1,4 ^k	737,9±2,0 ^j	881,25±4,0 ^{g,h,i}	954,1±10,3 ^{d,e}
n-6	146,1±8,0 ^{h,i}	125,5±3,9 ^j	179,6±2,2 ^{e,f,g}	155,5±0,3 ^{g,h}
n-3	1097,6±9,0 ^k	1260,8±45,0 ^j	1428,72±4,8 ⁱ	1513,6±13,6 ^h
n-3/n-6	7,5±0,3 ^{h,i,j}	10,0±0,3 ^{a,b}	7,9±0,07 ^{g,h,i,j}	9,7±0,1 ^{a,b,c,d,e}
AGPI/AGS	1,61±0,0 ^e	1,71±0,0 ^{b,c,d,e}	1,65±0,0 ^{d,e}	1,8±0,02 ^{b,c,d}

Valores expressos como a média ± desvio padrão de análises em triplicatas.

Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

AGS - ácidos graxos saturados, AGMI - ácidos graxos monoinsaturados, AGPI - ácidos graxos poli-insaturados, AGI - ácidos graxos insaturados totais, EPA - ácido eicosapentaenoico, DHA - ácido docosaexaenoico, n-6 - poli-insaturados n-6, n-3 - poli-insaturados n-3.

Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Diminuições significativas ocorreram ao longo do período de armazenamento nas concentrações dos AGI. No final de 120 dias as amostras controle apresentaram os menores teores de AGI quando comparadas com as demais amostras. As amostras adicionadas de urucum/coentro e urucum tiveram maiores concentrações que o tratamento com coentro.

Os teores de EPA começaram a apresentar reduções significativas aos 30 dias de estocagem nas amostras adicionadas de coentro, e aos 60 dias nas amostras controle e adicionadas de urucum e urucum/coentro. As amostras urucum/coentro e urucum tiveram teores significativamente maiores de EPA que as amostras coentro no final do armazenamento e as amostras controle foram as que apresentaram as menores concentrações deste AG.

As concentrações de DHA sofreram diminuições significativas a partir dos 30 dias de estocagem nas amostras adicionadas de coentro, após 60 dias nas amostras controle e urucum e 90 dias nas amostras urucum/coentro. No final da estocagem, os teores de DHA foram superiores nas amostras adicionadas de urucum/coentro. Nas demais amostras as concentrações de DHA foram decrescentes na seguinte ordem: urucum, coentro e controle.

As porcentagens de redução nos teores de EPA e DHA ao final de 120 dias de estocagem podem ser observadas na Figura 12. As maiores reduções ocorreram nas amostras controle com valores de 43% para EPA e 44% para DHA. As amostras adicionadas de urucum/coentro apresentaram as menores porcentagens de redução, que foram de 9% e 7% para EPA e DHA, respectivamente. O tratamento com urucum foi responsável por menores reduções (12% para EPA e 11% para DHA) que o tratamento com coentro (32% para EPA e 30% para DHA).

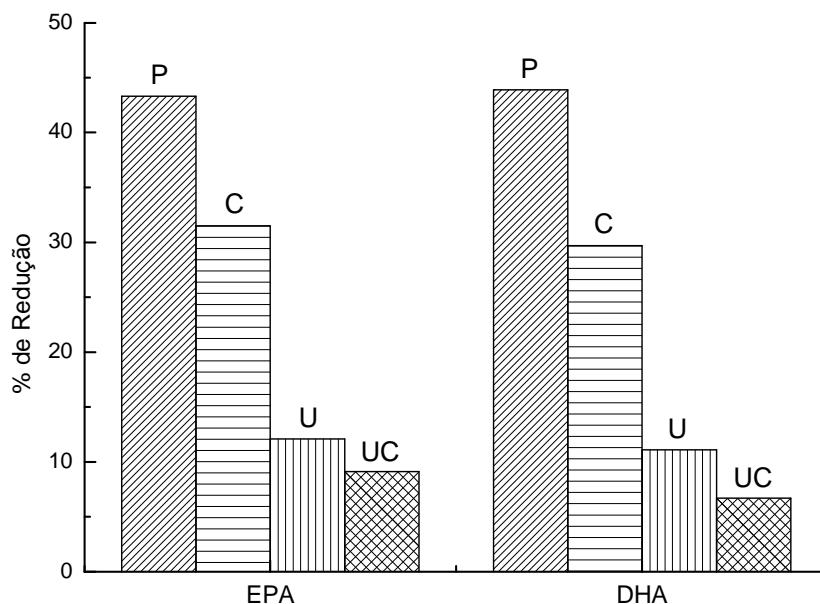


Figura 12: Porcentagem de redução nos teores de ácido eicosapentaenoico e ácido docosaexaenoico após 120 dias de armazenamento a -18 °C e subsequente tratamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

Embora EPA e DHA tenham sido os AGPI n-3 encontrados em maiores quantidades, concentrações superiores a 150 mg/ 100 g de ALA também foram detectados na maioria das amostras de filé de pescada branca.

Os AGPI n-3 das amostras coentro tiveram redução significativa de suas concentrações a partir do dia 30 e das amostras controle, urucum e urucum/coentro a partir dos 60 dias de estocagem. No final da estocagem o total de AGPI n-3 teve o mesmo comportamento que o DHA.

O AL foi o AG predominante da família n-6 em todas as amostras de filés de pescada branca. No tempo 30, as amostras adicionadas de urucum e urucum/coentro tiveram redução em seus teores de AGPI n-6 e as amostras controle e adicionadas de

coentro tiveram as concentrações reduzidas a partir dos 90 dias. Após 120 dias de armazenamento, as amostras urucum apresentaram os maiores teores de AGPI n-6, seguidas das amostras urucum, controle e coentro.

A relação AGPI n-3/n-6 sofreu variações durante a estocagem. Entretanto, após 90 dias, as amostras controle apresentaram tendência a uma menor relação que as demais amostras. Embora tenha ocorrido redução nos valores da relação n-3/n-6, os valores foram sempre superiores aos valores mínimos recomendados pelas agências reguladoras de saúde.

Não ocorreram alterações na relação AGPI/AGS em cada tratamento ao longo do armazenamento, com exceção da amostra controle no tempo 30 que apresentou valor maior que as demais amostras. Após 120 dias as amostras controle tiveram menor relação AGPI/AGS que as amostras adicionadas de urucum/coentro.

Tendo o presente estudo analisado a totalidade dos AG em todos os tempos de estocagem, observou-se um grande número de variações referentes às concentrações dos mesmos, principalmente no que diz respeito aos diferentes tratamentos em cada tempo de estocagem. Embora uma parte destas variações possa estar relacionada com a amostragem, as maiores perdas nas concentrações de AG estão provavelmente ligadas à oxidação lipídica.

A carne de pescados é mais propensa à deterioração oxidativa devido ao maior teor de AGI que as carnes de aves e mamíferos, sendo que o nível da oxidação lipídica aumenta com o número de insaturações (BELTRÁN; MORAL, 1991). As diminuições nas concentrações de AGPI, principalmente de EPA e de DHA, durante o congelamento verificadas neste estudo, estão em acordo com os relatos de outros autores (NAZEMROAYA; SAHARI; REZAEI, 2009; SALDANHA; BRAGAGNOLO, 2007, 2008; SALDANHA; BENASSI; BRAGAGNOLO, 2008; CASTRILLÓN et al., 1996; BELTRÁN; MORAL, 1991).

Durante o processamento mecânico da carne de peixe ocorre ruptura das membranas e exposição dos lipídios musculares, acelerando as reações oxidativas. A temperatura de congelamento não inibe a ação das enzimas lipolíticas, as quais liberam

AG livres e estes se oxidam mais facilmente que os AG esterificados (ERICKSON, 2008; MAI; KINSELLA, 1979). É importante salientar que estas enzimas podem ser inativadas pelo tratamento térmico (REFSGAARD; BROCKHOFF; JENSEN, 2000).

No que diz respeito à redução dos níveis da oxidação lipídica em peixes congelados, o fator mais importante seria o controle do início das reações oxidativas, pois uma vez estabelecidas, a qualidade da carne de peixe pode se deteriorar rapidamente (KE et al., 1977). A adição de antioxidantes preventivos, que impeçam a formação de radicais livres pode se mostrar eficiente nesses casos. Por outro lado, se a formação dos radicais livres já tiver ocorrido, o emprego de antioxidantes que os inativem é importante para interromper a propagação da oxidação lipídica. Os compostos fenólicos, frequentemente encontrados em plantas podem ser utilizados com essa finalidade.

Em um estudo realizado com carne de peixe (*Scombreromorus commersoni*) moída, refrigerada a 4°C e congelada a -20°C por 3 semanas, foi demonstrado que sob concentrações de 200 ppm, polifenóis mostraram maior ação antioxidante que ácido ascórbico e α -tocoferol (RAMANATHAN; DAS, 1992). O extrato de alecrim apresentou maior atividade antioxidante que o suco de cebola em filés de sardinha moídos e estocados a -20°C por 5 meses (SERDAROGLU; FELEKOGLU, 2005).

O pré-tratamento de cavalas inteiras com extrato de plantas (Rosmanol-P), congeladas por 12 meses a -20°C, determinou menores teores de dienos conjugados quando comparados com as amostras controle, demonstrando que os antioxidantes contidos no extrato foram eficientes frente à oxidação lipídica (LUGASI et al., 2007).

A avaliação da adição de α -tocoferol em óleo de cavala estocado a -40°C por 66 dias demonstrou, através da determinação dos valores de TBARS, dienos conjugados e índice de peróxido, que concentrações de 50 e 100 ppm de α -tocoferol foram eficientes no controle da oxidação lipídica (ZUTA et al., 2007). Durante o estudo realizado em sistema modelo de óleo de pele de sardinha estocado a 40°C no escuro, foi verificado o efeito sinérgico de α -tocoferol, lecitina e ácido ascórbico, sendo que a combinação

0,01% de α -tocoferol, 0,5% de de lecitina e 0,05% de ácido ascórbico foi a mais eficiente no controle da oxidação lipídica (VICETTI et al., 2005).

A adição de urucum e coentro como antioxidantes retardou a oxidação lipídica na carne de pescada branca. Ao final da estocagem os teores de EPA e DHA foram mais preservados nas amostras adicionadas de antioxidantes na seguinte ordem: urucum/coentro > urucum > coentro > controle (Figuras 13 e 14). Estes resultados indicam que o urucum juntamente com o coentro apresentaram efeito sinérgico frente à oxidação lipídica.

Embora os carotenoides sejam antioxidantes tipicamente secundários em alimentos, nos filés de pescada branca, devido à baixa concentração de $^1\text{O}_2$ e ausência de luz, preveniram a oxidação lipídica inativando radicais livres e interrompendo a reação em cadeia (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008).

O composto fenólicos presentes no coentro demonstraram ter uma atividade antioxidante menor do que a dos carotenoides do urucum, frente à degradação dos AGPI em carne de pescada branca. Em um estudo comparativo com extratos etanólicos de ervas e condimentos comercializados no Brasil, o coentro apresentou menor capacidade antioxidante que o colorífico (MARIUTTI et al., 2008a). A esses achados, soma-se o fato de que o coentro foi acrescentado às amostras sob a forma fresca e picada, enquanto que o urucum foi adicionado na forma de pó. Se a adição do coentro tivesse sido na forma de pó, o contato com a carne de peixe processada poderia ter sido maior e assim, talvez, ele expressasse uma maior capacidade antioxidante.

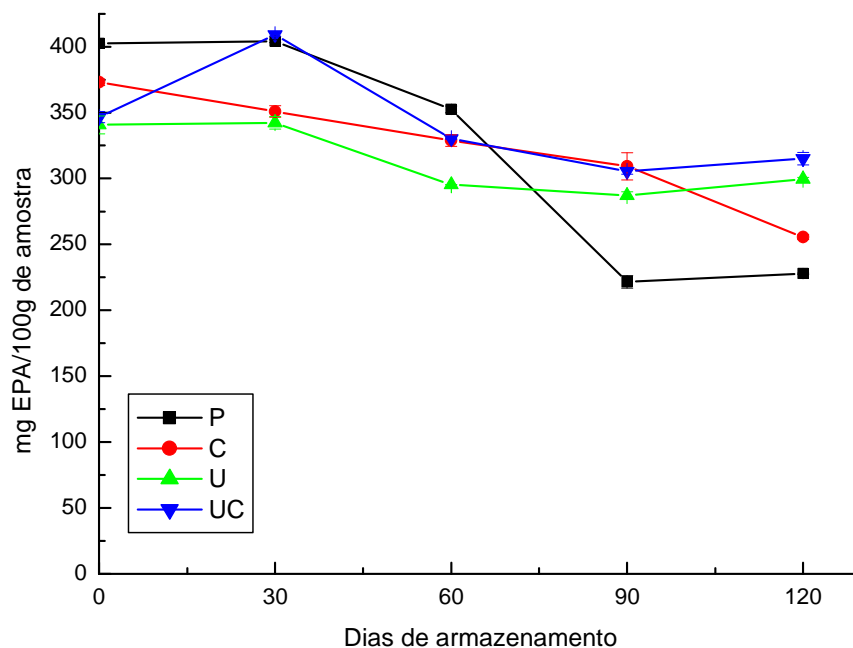


Figura 13: Teores de ácido eicosapentaenoico (mg/100 g em base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18 °C por 120 dias e subsequente tratamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

As composições antioxidantes mais eficientes empregadas em alimentos são aquelas que contêm compostos com diferentes mecanismos de ação e/ou propriedades físicas (KIOSKIAS; GORDON, 2003). O α -tocoferol pode retardar a formação de adutos de radicais carotenoides e posteriormente os seus produtos de degradação (KIOSKIAS; GORDON, 2003; HAILA; LEINOVEN; HEINONEN, 1996). No presente estudo, os compostos fenólicos encontrados no coentro podem ter exercido um efeito protetor inibindo a degradação da bixina e aumentando a sua ação antioxidante. Resultados semelhantes foram reportados por Kiokias e Gordon (2003) ao avaliarem a ação de bixina e tocoferóis em sistema modelo de azeite de oliva em água.

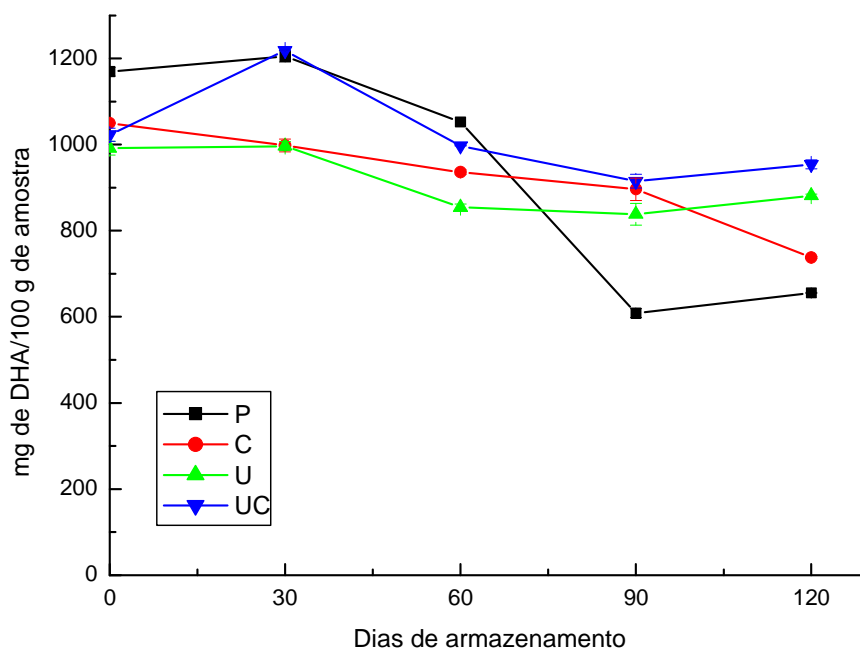


Figura 14: Teores de docosaexaenoico (mg/100 g em base seca) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18 °C por 120 dias e subsequente tratamento térmico. Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

5.4.2. Substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação de TBARS (Figura 15) foi realizada no tempo zero em amostras cozidas e nos tempos 60 e 120 em amostras estocadas a -18°C e posteriormente cozidas. No tempo zero houve diferença significativa ($p > 0,05$) apenas entre as amostras controle e as adicionadas de coentro. As amostras controle apresentaram os maiores valores de TBARS demonstrando que os antioxidantes minimizaram a oxidação lipídica durante o tratamento térmico. Após 60 dias de estocagem ocorreu aumento significativo nas concentrações de TBARS em todas as amostras e as menores concentrações foram encontradas nas amostras adicionadas de urucum. Ao final de 120 dias de estocagem, houve um ligeiro acréscimo nas concentrações de

todas as amostras, entretanto este aumento só foi significativo ($p>0,05$) para as amostras controle e urucum. Em um estudo realizado com filés de bagre tratados com ácido cítrico e ácido ascórbico e estocados a -18°C por 6 meses, foi verificado um aumento gradual nos valores de TBARS de todas as amostras, entretanto, nas amostras controle, este aumento foi mais acentuado do que nas demais amostras (POURASHOURI et al., 2009). Amostras de sardinha moída, adicionadas de extrato de alecrim e suco de cebola e estocadas a -20°C por 5 meses tiveram um aumento progressivo nos valores de TBARS, contudo as amostras adicionadas de extrato de alecrim apresentaram menores valores durante a estocagem quando comparadas com as amostras controle e com as adicionadas de suco de cebola (SERDAROGLU; FELEKOGLU, 2005).

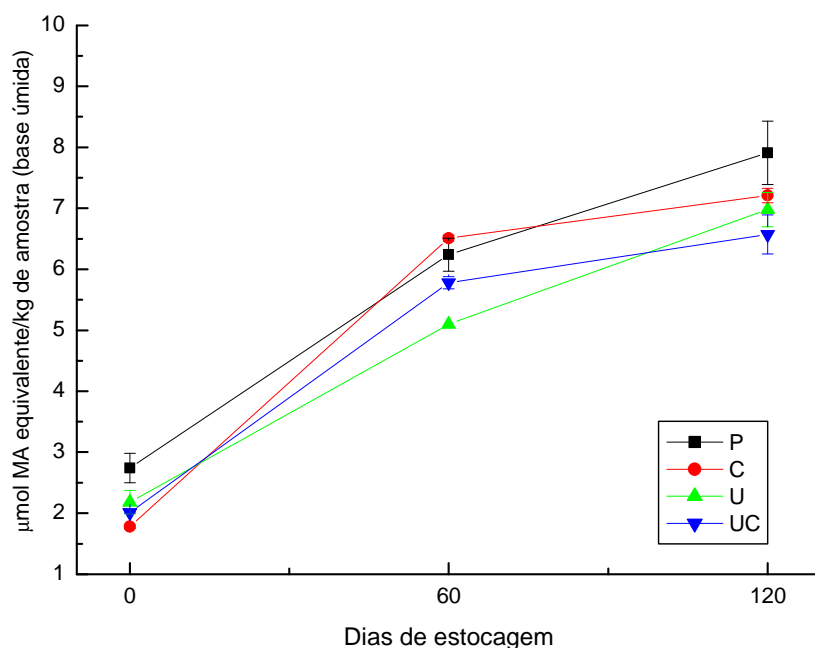


Figura 15: Valores de TBARS ($\mu\text{mol MA equivalente, kg de amostra, base úmida}$) em filé de pescada branca durante armazenamento a -18°C por 120 dias e subsequente tratamento térmico Amostras: P - controle, C - 0,5% de coentro, U - 0,1% de urucum e UC - 0,1% de urucum + 0,5% de coentro.

O teste de TBARS envolve a reação do TBA com o malonaldeído (MA), produzido pela decomposição do hidroperóxido durante a fase de terminação da oxidação lipídica. Entretanto, este método tem a desvantagem do TBA não ser específico para o MA, podendo reagir com aldeídos provenientes de outras reações e superestimar a extensão da oxidação lipídica. No entanto, a determinação de TBARS é um método utilizado com frequência para a investigação e acompanhamento da oxidação lipídica em peixes (CHAIJAN et al, 2006; TOKUR et al, 2006; PÉREZ-VILARREAL; HOWGATE, 1991; BELTRAN; MORAL, 1990; 1991).

6. CONCLUSÃO

A carne de pescada branca, além de conter baixos teores de lipídios, é uma boa fonte dos ácidos graxos EPA e DHA, possuindo uma relação AGPI n-3/n-6 próxima de 10. Embora a relação AGPI n-3/n-6 tenha sofrido algumas reduções em decorrência do tratamento térmico e da estocagem, ela permaneceu de acordo com as recomendações nutricionais. O tratamento térmico provocou a diminuição nas concentrações dos AGPI em carne de pescada branca e a adição isolada ou combinada de 0,1% de urucum e 0,5% de coentro não inibiu a oxidação lipídica durante este processo. A estocagem por congelamento resultou em redução dos teores de AGPI e aumento dos valores de TBARS. Os antioxidantes foram efetivos na inibição da oxidação lipídica após 90 dias de estocagem, sendo que a adição de 0,1% de urucum e 0,5% de coentro em carne de pescada branca demonstrou ser um método eficiente para inibir a oxidação lipídica durante estocagem por congelamento a -18°C por 120 dias. Quando acrescentados de forma isolada o urucum mostrou maior poder antioxidante que o coentro. Entretanto, ao serem adicionado em conjunto apresentaram efeito sinérgico promovendo maior atividade antioxidante do que quando adicionados separadamente às amostras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafoods. **Progress in Food and Nutrition Science**, 13: 161-241, 1989.

ALASALVAR, C.; TAYLOR, K. D. A.; ZUBCOV, E.; SHAHIDI, F.; ALEXIS, M. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. **Food Chemistry**, 79: 145–150, 2002.

ANDRADE, A. D.; RUBIRA, A. F.; MATUSHITA, M.; SOUZA, N. E. ω -3 Fatty acids in freshwater fish from South Brazil. **Journal of AOAC**, 72: 1207-1210, 1995.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of the analysis of the association of official analytical chemists**, 16 ed., Washington: AOAC 1997.

ARMSTRONG, S. G.; LEACH, D. N.; WYLLIE, S. G. Nutritional evaluation of lipids in fish from temperate Australian waters. **Journal of Food Science**, 56: 1111-1112, 1991.

ARTS, T. M.; ACKMAN, R. G.; HOLUB, B. J. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 58: 122-137, 2001.

AUESTAD, N.; MONTALTO, M. B.; HALL, R. T.; FITZGERALD, K. M.; WHEELER, R. E.; CONNOR, W. E.; NEURINGER, M.; CONNOR, S. L.; TAYLOR, J. A.; HARTMANN, E. Visual acuity, erythrocyte fatty acid composition, and growth in term infants fed formulas with long chain polyunsaturated fatty acids for one year. **Pediatric Research**, 41: 1-10, 1997.

BAKAR, J; RAHIMABADI, E. Z; CHE-MAN, Y. B. Lipid characteristics in cooked, chill-reheated fillets of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorous guttatus*). **LWT - Food Science and Technology**, 41: 2144-2150, 2008.

BANDYOPADHYAY, M; CHAKRABORTY, R; RAYCHAUDHURI, U. Incorporation of herbs into sandesh, an Indian sweet dairy product of, as a source of natural antioxidants. **International Journal of Dairy Technology**, 60: 228-233, 2007.

BELTRÁN, A.; MORAL, A. Gas chromatographic estimation of oxidative deterioration in sardine during frozen storage. **LWT – Food Science and Technology**, 23: 499-504, 1990.

BELTRÁN, A.; MORAL, A. Changes in fatty acid composition of fresh and frozen sardine (*Sardina pilchardus* W.) during smoking. **Food Chemistry**, 42: 99-109, 1991.

BERG, H; FAULKS, V. R.; FERNANDO-GRANADO, H.; HIRSCHBERG, J.; OLMEDILLA, B.; SANDMANN, G.; SOUTHO, S.; STAHL, W. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80: 880-912, 2000.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced, chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technologie**, 221: 610-15, 2005.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Rosemary as antioxidant in pressure processed chicken during subsequent cooking as evaluated by electron spin resonance spectroscopy. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8: 24-29, 2007.

BRENNA, J. T.; DIAU, G. Y. The influence of dietary docosahexaenoic acid and arachidonic acid on central nervous system polyunsaturated fatty acid composition. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, 77: 247–250, 2007.

BRITTON, G. UV/Visible Spectroscopy: In: **Carotenoids: Spectroscopy**. Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Ed. Basel, Birkhäuser, vol 1B, p 13-62, 1995.

BURDOCK, G. A.; CARABIN, I. G. Safety assessment of coriander (*Coriander sativum* L.) essential oil as a food ingredient. **Food and Chemical Toxicology**, 47: 22-34, 2009.

CALDER, P. C. Long-chain n-3 fatty acids and cardiovascular disease: further evidence and insights. **Nutrition Research**, 24: 761-772, 2004.

CANDELA, M.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Deep-fat frying modifies high-fat fish lipid fraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46: 2793-2796, 1998.

CANDELA, M.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Effects of frying and warmholding on fatty acids and cholesterol of sole (*Solea solea*), codfish (*Gadus morrhua*) and hake (*Merluccius merluccius*). **Food Chemistry**, 58: 227-231, 1997.

CARDARELLI, C. R.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. **LWT – Food Science and Technology**, 41: 1689-1693, 2008.

CARLSEN, C. U. **Oxidative changes in meat. Aspects of iron catalysis and radical formation**. 2003. 99p. Tese (Doutorado) - Departement of Dairy and Food Science, The Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Denmark, 2003.

CASTRILLÓN, A. M.; ALVÁREZ-PONTES E.; GARCÍA ARIAS, M. T.; NAVARRO, P. Influence of frozen storage and defrosting on the chemical and nutritional quality of Sardine (*Clupea pilchardus*) **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 70: 29-34, 1996.

CASTRILLÓN, A. M.; NAVARRO, P.; ALVÁREZ-PONTES E. Changes in chemical composition and nutritional quality of fried sardine (*Clupea pilchardus*) produced by frozen storage and microwave reheating. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 75: 125-132, 1997.

CASTRO, F. A. F.; SANT'ANA, H. M. P.; CAMPOS, F. M.; COSTA, N. M. B.; SILVA, M. T.C.; SALARO, A. L.; FRANCESCHINI, S. C. C. Fatty acid composition of three freshwater fishes different storage and cooking processes. **Food Chemistry**, 103: 1080-1090, 2007.

CASTRO, W. F. **Avaliação do efeito protetor do colorífico como antioxidante natural na oxidação lipídica em carne de frango**. 2008. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CELIK, M.; DILER, A. KUCUKGULMEZ, A. A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. **Food Chemistry**, 92: 637–641, 2005.

CHAIJAN, M.; SOOTTAWAT, B.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. **Food Chemistry**, 99: 83-91, 2006.

CHAN, E. J.; CHO, L. What can we expect from omega-3 fatty acids? **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, 76: 245-251, 2009.

CHEN, Y. C.; NGUYEN, J.; SEMMENS, K.; BEAMER, S.; JACZYNSKI, J. Physicochemical changes in ω -3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle during refrigerated storage. **Food Chemistry**, 104: 1143-1152, 2007.

CHIPAULT, J. R.; MIZUNO, G. R.; HAWKINS, J. M.; LUNDBERG, W. O. The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**, 17: 46-55, 1952.

CHIPAULT, J. R.; MIZUNO, G. R.; LUNDBERG, W. O. The antioxidant properties of spices in foods. **Food Technology**, 10: 209-211, 1956.

CONNOR, W. E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, 71: 1715-1755, 2000.

CRAWFORD, M. A. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 71: 275-28, 2000.

CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; RICHARD, H. Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42: 665-669, 1994.

CYSNEIROS, R. M.; TERRA, V. C.; MACHADO, H. R.; ARIDA, R. M.; ALBUQUERQUE, M.; SCORZA, C. A.; CAVALHEIRO, E. A.; SCORZA, F. Epilepsy and sudden unexpected death in epilepsy? Eat more fish! A group hypothesis. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, 67: 927-929, 2009.

D.O.U. - Diário Oficial da União de 22 de março de 1999. Portaria nº 1004, 11 de dezembro de 1998. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1004_98.htm>. Acesso em: 24/11/2009.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, 55: 5062-5072, 2007.

ECHARTE, M.; ZULET, M. A.; ASTIASARAN, I. Oxidation process affecting fatty acids and cholesterol in fried and roasted salmon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49: 5662-5667, 2001.

EMKEN, E. A.; ADLOF, R. O.; GULLEY, R. M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1213:277–288, 1994.

ERICKSON, M. C Lipid Oxidation of muscle foods. In: **Food Lipids**. Akoh, C. C, Min, D. B., ed. Marcel Dekker, Inc, 3rt ed, 2008. p. 321-363.

ERKKILÄ, A.; MELLO V. D. F.; RISÉRUS, U.; LAAKSONEN, D. E. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. **Progress in Lipid Research**, 47: 172-187, 2008.

ETTINGER, S. Macronutrientes: Carboidratos, proteínas e lipídeos. In: **Krause: Alimentos Nutrição e Dietoterapia**. MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. São Paulo: Roca, 11 ed, 2005. p. 35- 71.

FAO . Food and Agricultural Organization (1994). Fats and oils in human nutrition. Roma, FAO. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em 07/12/2009.

FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics.2006. Rome, 49p, 2008.

FAO/WHO. 1982. Food and Nutrition Paper 25. Rome, p.22.

FAO/WHO. Food Additives. Serie 58. Geneva, p 3-12, 2007.

FATTOUCH, S.; SADOK, S.; RABOUDI-FATTOUCH, F.; SLAMA, M.B. Damage inhibition during refrigerated storage of mackerel (*Scomber scombrus*) fillets by a presoaking in quince (*Cydonia oblonga*) polyphenolic extract. **International Journal of Food Science and Technology**, 43: 2056–2064, 2008.

FOLCH, J, LEES, M, STANLEY, S. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biology and Chemistry**, 226: 497-509, 1957.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, 57: 51-55, 1996.

FREEMAN, M. P.; DAVIS, M.; PRITI, S.; WISNER, K. L.; HIBBEN, J. R.; GELENBERG, A.J. Omega-3 fatty acids and supportive psychotherapy for perinatal depression: A randomized placebo-controlled study. **Journal of Affective Disorders**, 110: 142-148, 2008.

FRITSCHKE, K. L, JOHNSTON, P. V. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets. **Aquaculture**, 84: 145-158, 1990.

GALINDO-CUSPINERA, V.; LUBRAN, M. B.; RANKUN, S. Comparison of volatile compounds in water- and oil-soluble annatto (*Bixa orellana* L.) extracts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 50: 2010-2015, 2002.

GLADYSHEV, M.; SUSHCHIK, N. N.; GUBANENKO, G. A.; DEMIRCHIEVA, S. M.; KALACHOVA, G. Effect of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). **Food Chemistry**, 96: 446-451, 2006.

GLADYSHEV, M.; SUSHCHIK, N. N.; GUBANENKO, G. A.; DEMIRCHIEVA, S. M.; KALACHOVA, G. Effect of boiling and frying on the content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of four fish species. **Food Chemistry**, 101: 1694-1700, 2007.

GUERRA, N. B.; MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J. Antioxidant compounds from coriander (*Coriandrum sativum* L.) etheric extract. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18: 193-199, 2005.

HAILA, K. M.; LIENOVEN, S. M.; HEINONEN, M. I. Effects of lutein, lycopene, annatto, and γ -tocopherol on autoxidation of triglycerides. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 44: 2096-2100, 1996.

HE, K.; DAVIGLUS, M. L.; LIU, K.; HORN, L. V. H.; DYER, A. R.; GOLDBOURT, U.; GREENLAND, P. Fish consumption and incidence of stroke – a meta-analysis of cohort studies. **Stroke**, 35: 1538-1542, 2004.

HEA - Health Education Authority. **Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease**. Hamilton House, Mabledon Place, London, p.13-17, 1996.

HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S.T. Formation of cholesterol products (COPs) in animal products. **Food Control**, 18: 939-947, 2007.

HUYNH, M. D.; KITTS, D. D. Evaluating nutritional quality of pacific fish species from fatty acid signatures. **Food Chemistry**, 114: 912–918, 2009.

HUYNH, M. D.; KITTS, D. D., HU, C.; TRITES, A. W. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 146: 504–511, 2007.

IBAMA –Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação**. Brasília, 174 p., 2008.

INNIS, S. M. Essential fatty acids in growth and development. **Progress in Lipid Research**, 30: 39-103, 1991.

ISSFAL - International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. **Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults**. 2008. Disponível em: <<http://www.issfal.org.uk/index.php/lipid-matters/issfal-policy-statement/issfal-policy-statement-3>>. Acesso em 15/11/2009.

JITTREPOTCH, N.; USHIO, H.; OHSHIMA, T. Effects of EDTA and a combined use of nitrite and ascorbate on lipid oxidation in cooked Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) during refrigerated storage. **Food Chemistry**, 99: 70-82, 2006.

JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R.G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 75: 488-506, 1992.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E.; SIEBENHANDL, S.; BAUER, F. The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. **Meat Science**, 72: 446-456, 2006.

KALYONCU, L.; KISSAL, S.; AKTUMSEK, A. Seasonal changes in the total fatty acid composition of Vimba, *Vimba vimbatenella* (Nordmann, 1840) in Egirdir Lake, Turkey. **Food Chemistry**, 116: 728-730, 2009.

KAMAT, A.; PINGULKAR, K.; BHUSHAN, B.; GHOLAP, A.; THOMAS, P. Potential application of low gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. **Food Control**, 14: 529-537, 2003.

KAUR, C.; KAPPOR, H. C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, 37: 153-161, 2002.

KE, P. J.; ACKMAN, R. G.; LINKE, B.A.; NASH, D. M. Differential lipid oxidation in various parts of frozen mackerel. **Journal of Food Technology**, 12: 37-47, 1977.

KIM, H.J.; MIN, D. B. Chemistry of lipid oxidation. In: **Food Lipids**. Akoh, C. C.; Min, D. B., ed. Marcel Dekker, Inc, 3rd ed, 2008. p. 299-320.

KIOKIAS, S.; DIMAKOU, C.; OREOPOULOU, V. Activity of natural carotenoid preparations against the autoxidative deterioration of sunflower oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, 114: 1278-1284, 2009.

KIOSKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, 83: 523-529, 2003.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; APPEL, L. J. Fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. **Circulation**, 106: 2747-2757, 2002.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HILL, A. M. n-3 fatty acids: food or supplements. **Journal of the American Dietetic Association**, 108: 1125-1130, 2008.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, 46: 244-282, 2007.

LARA, W. H. (editor. Monografias de corantes naturais para fins alimentícios. Padrões de identidade e qualidade. São Paulo, p. 22-29.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer, L, Douce, R, Eds. **Methods in Enzymology**. Academic Press, London, UK, 148: 350-381, 1987.

LOMBARDO, Y. B.; CHICCO, A. G. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 17: 1-13, 2006.

LOVELL, R.T. Nutrition of aquaculture species. **Journal of Animal Science**, 69: 4193–4200, 1991.

LUGASI, A.; LOSADA, V.; HÓVARI, J.; LEBOVICS, V.; JACKÓSZI, I.; AUBOURG, S. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. **LWT - Food Science and Technology**, 40: 930–936, 2007.

MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, 6: 271-277, 1995.

MAI, J.; KINSELLA, J. E. Changes in lipid composition of cooked minced carp (*Cyprinus carpio*) during frozen storage. **Journal of Food Science**, 44: 1619-1624, 1979.

MAI, J.; SHIMP, J.; WEIHRAUCH, J.; KINSELLA, J. E. Lipids of fish fillets: changes following cooking by different methods. **Journal of Food Science**, 43: 1669-1674, 1978.

MANSOUR, E.; KHALIL, A. H. Evaluation of antioxidant activity of some plants extracts and their application to ground beef patties. **Food Chemistry**, 69: 135-141, 2000.

MARIUTTI, L. R. B.; BARRETO, G. P. M.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 51: 1225-1232, 2008a.

MARIUTTI, L. R. B.; ORLIEN, V.; BRAGAGNOLO, N.; SKIBSTED, L. H. Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. **European Food Research and Technology**, 227: 337-344, 2008b.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, 19: 761-770, 2006.

MATASYOH, J. C.; MAIYO, Z. C.; NGURE, R. M.; CHEDPKORIR, R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. **Food chemistry**, 113: 526-529, 2009.

MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N. B. Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (*Coriandrum sativum* L.). **LWT - Food Science and Technology**, 38: 15-19, 2005.

MELO, E. A.; MANCINI-FILHO, J.; GUERRA, N. B.; MACIEL, G. R. Atividade antioxidante de extratos de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 235: 195-199, 2003.

MÉNDEZ, E.; GONZÁLEZ, R. M. Seasonal changes in the chemical and lipid composition of fillets of the Southwest Atlantic hake (*merluccius hubbsi*). **Food Chemistry**, 59: 213-217, 1997.

MERCADANTE, A. Z.; STECK A.; PFANDER, H. Three minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) seeds. **Phytochemistry**, 52: 135-139, 1999.

MERCADANTE, A. Z.; STECK, A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; PFANDER, H. Isolation and structure elucidation of minor carotenoids from annatto (*Bixa-orellana*) seeds. **Phytochemistry**, 46: 1379-1383, 1997.

MISHARINA, T. A.; POLSHKOV, N. A. Antioxidant properties of essential oils: autoxidation of essential oils from laurel and fennel and their mixtures with essential oil from coriander. **Applied Biochemistry and Microbiology**, 41: 610-618, 2005.

MONTENEGRO, M.; RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z.; NAZARENO, M. A.; BORSARELLI, C. D. Model studies on the photosensitized isomerisation of bixin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 367-373, 2004.

MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. **Journal of Food Composition and Analysis**, 14: 565-574, 2001.

NAMBUDIRI, D. D.; GOPAKUMAR, K. ATPase and lactate dehydrogenase activities in frozen stored fish muscle as indices of cold storage deterioration. **Journal of Food Science**, 57: 72-76, 1992.

NAZEMROAYA, S.; SAHARI, M. A.; REZAEI, M. Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomorus commersoni* and *Carcharhinus dussumieri*. **Journal of Applied Ichthyology**, 25: 91–95, 2009.

O'KEEFE, S. F. Nomenclature and Classification of Lipids. In: **Food Lipids**. Akoh, C. C, Min, D. B., ed. Marcel Dekker, Inc, 3rd ed, 2008. p. 3-41.

OKLAND, H. M. W.; STOKNES, I. S.; REMME, J. F.; KJERSTAD, M.; SYNNE, M. Proximate composition, fatty acid and lipid class composition of the muscle from deep-sea teleosts and elasmobranchs. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 140: 437-443, 2005.

OSMAN, H.; SURIAH A. R.; LAW, E. C. Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. **Food Chemistry**, 73: 55-60, 2001.

OZOGUL, Y.; OZYURT, G.; BOGA, E. K. Effects of cooking and reheating methods on the fatty acid profile of sea bream treated with rosemary extract. **Journal of Science of Food and Agriculture**, 89: 1481–1489, 2009.

PAWLOSKY, R. J.; HIBBELN, J. R.; NOVOTNY, J.A.; SALEM, N. Physiological compartmental analysis of α -linolenic acid metabolism in adult humans. **Journal of Lipid Research**, 42: 1257-1265, 2001.

PÉREZ-VILLARREAL, B.; HOWGATE, P. Deterioration of European hake (*Merluccius merluccius*) during frozen storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 55: 455-469, 1991.

POLAT, A.; KUZU, S.; OZYURT, G.; TOKUR, B. Fatty acid composition of red mullet (*Mullus barbatus*): a seasonal differentiation. **Journal of Muscle Foods**, 20: 70–78, 2009.

POTTER, T. L.; FAGERSON, I. S. Composition of coriander leaf volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 38: 2054-2056, 1990.

POURASHOURI, P.; SHABANPOUR, B.; AUBOURG, S.P.; ROHI, J.D.; SHABANI, A. An investigation of rancidity inhibition during frozen storage of Wels catfish (*Silurus glanis*) fillets by previous ascorbic and citric acid treatment. **International Journal of Food Science and Technology**, 44: 1503–1509. 2009.

PRÍNCIPE, F.; PÉREZ, M.; CROCI, C. Stability of lipids and fatty acids in frozen and gamma irradiated Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) from the Southwestern Atlantic. **LWT - Food Science and Technology**, 42: 1308–1311, 2009.

RACANICCI, A. M. C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J. F. M.; REGITANO D'ARCE, M. A. B.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant effect of ditanny (*Origan dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, 218: 521-524, 2004.

RAMANHATAN, L.; DAS, N. P. Studies of the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40: 17-21, 1992.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology Medicine**, 26: 1231–1237, 1999.

REFSGAARD, H. F. H.; BROCKHOFF, P. B.; JENSEN, B. Free polyunsaturated fatty acids cause taste deterioration of salmon during frozen storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48: 3280-3285, 2000.

REFSGAARD, H. F. H.; BROCKHOFF, P. B.; JENSEN, B. Sensory and chemical changes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45: 3473-3479, 1998.

REISCH, D.W.; LILLARD, D.A.; EITENMILLER, R.R. Antioxidants. In: **Food Lipids**. Akoh, C. C, Min, D. B., ed. Marcel Dekker, Inc, 3rd ed, 2008. p. 409-433.

RICHARDSON, A. J. Omega-3 fatty acids in ADHA and related neurodevelopmental disorders. **International Review of Psychiatry**, 18: 155-172, 2006.

RIOS, A. O.; ANTUNES, L. M.G.; BIANCHI, M. L. P. Bixin and lycopene modulation of free radical generation induced by cisplatin–DNA interaction. **Food Chemistry**, 113: 1113–1118, 2009.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z.; BORSARELLI, C. D. Triplet state energy of the carotenoid bixin determined by photoacoustic calorimetry. **Dyes and Pigments**, 74: 561-567, 2007.

RUPERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, 69: 167-174, 2000.

SALDANHA, T.; BENASSI, M. T.; BRAGAGNOLO, N. Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling **LWT - Food Science and Technology**, 41: 1301–1309, 2008.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxidation is increased and PUFA decreased by frozen storage and grilling of Atlantic hake fillets (*Merluccius hubbsi*). **Lipids**, 42: 671–678, 2007.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Relation between types of packaging, frozen storage and grilling on cholesterol and fatty acids oxidation in Atlantic hake fillets (*Merluccius hubbsi*). **Food Chemistry**, 106: 619-627, 2008.

SAN GIOVANNI, J. P.; CHEW, E. Y. The role of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. **Progress in Retinal Eye Research**, 24: 87-138, 2005.

SCHAEFER E. J.; BONGARD, V.; BEISER, A. S.; LAMON-FAVA, S.; ROBINS, S. J.; AU, R.; TUCKER, K.; KYLE, D. J.; WILSON, P. W. F.; WOLF, P. A. Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: The Framingham Heart Study. **Archives of Neurology**, 63: 1545-1550, 2006.

SCHMITZ, G.; ECKER J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, 47: 147-155, 2008.

SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L. R.; GARDNER, P. T.; HEINONEN, M. I.; HOPIA, A.; HUYN-BA, T.; LAMBELET, P.; MC PHAIL, D.; TIJBURG, L. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European Food Research and Technology**, 212: 319-328, 2001.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>. Acesso em 10/11/2009.

SELKE, E.; ROHWEDDER, W. K.; DUTTON, H. J. Volatile components from triestearin heated in air. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 52: 232-235, 1975.

SERDAROGLU, M.; FELEKOGLU, E. Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. **Journal of Food Quality**, 28: 109-120, 2005.

SHIRAI, N.; TERAYAMA, M.; TAKEDA, H. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content in sardine *Sardinops melanostictus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 131: 387-393, 2002.

SILVA, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Antioxidant action of bixin against cisplatin induced chromosome aberrations and lipids peroxidation in rats. **Pharmacological Research**, 43: 561-566, 2001.

SIMOPOULOS, A. P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, 70: 560-569, 1999.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the omega-6/mega-3 fatty acids. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 56: 365-379, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the omega-6/mega-3 fatty acids ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, 233: 674-688, 2008.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16: 144-158, 1965.

SØRENSEN, G.; JØRGENSEN, S. S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A**, 202: 205–210, 1996.

STEFFENS, W. Effects of variation feeds on nutritive in essential fatty acids in fish value of freshwater fish for humans. **Aquaculture**, 151: 97-119, 1997.

SUBHASREE, B.; BASKAR, R.; KEERTHANA, R. L.; SUSAN, R. L.; RAJASEKARAN, P. Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. **Food Chemistry**, 115: 1213-1220, 2009.

SURIAH, A. R.; TEH, S. H.; OSMAN, H.; NIK-MAT, D. Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. **Food Chemistry**, 54: 45-49, 1995.

TANAKOL, R.; YAZICI, R.; SENER, E.; SENCER, E. Fatty acid composition of 19 species of fish from the Black Sea and the Marmara Sea. **Lipids**, 34: 291-297, 1999.

TOKUR, B.; OZKUTUK, S.; ATICI, E.; OZYURT, G.; OZYURT, C. E. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), During Frozen Storage. **Food Chemistry**, 99: 335-341, 2006.

VICETTI, R.; ISHITANI, T.; SALAS, A.; AYALA, M. Use of α -tocopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18: 131-137, 2005.

VISENTAINER, J. V.; NOFFS, M. D'A.; CARVALHO, P. O.; ALMEIDA, V. V.; OLIVEIRA, C. C.; SOUZA, N. E. Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the Southeast coast of Brazil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 84: 543–547, 2007.

VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MAKOTO, M.; HAYASHI, C.; FRANCO, M. R. F. Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Food Chemistry**, 90: 557-560, 2005.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm**, 72: 1084–1087, 1970.

WANG, Y. J.; MILLER, L. A.; PERREN, M.; ADDIS, P. B. Omega-3 fatty acids in lake superior fish. **Journal of Food Science**, 55: 71–76, 1990.

WANGENSTEEN, H.; SAMUELSEN, A. B.; MALTERUD, K. E. antioxidant activity in extracts from coriander. **Food Chemistry**, 293: 293-297, 2004.

WEBER, J.; BOCHI, V. C.; RIBEIRO, C.P.; VICTORIO, A. M.; EMANUELLI, T. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acids composition of silver catfish (*Ramdhia Quelen*) fillets. **Food Chemistry**, 106: 140-146, 2008.

YAGIZ, Y.; KRISTINSSON, H. G.; BALABAN, M. O.; WELT, B. A.; RALAT, M.; MARSHALL, M. R. Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon. **Food Chemistry**, 116: 828–835, 2009.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; POKORNÝ, J. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal if Lipid Science and Technology**, 108: 776-793, 2006.

ZUTA, P.C.; SIMPSON, B.K.; ZHAO, X.; LECLERC, L. The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. **Food chemistry**, 100: 800-807, 2007.